

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут
імені Ігоря Сікорського»
Міністерства освіти і науки України
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут
імені Ігоря Сікорського»
Міністерства освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

Шпотак Михайло Олександрович

УДК 612.014.42:612.174

ДИСЕРТАЦІЯ

МОДЕЛЮВАННЯ ТА АНАЛІЗ


ПОЗАКЛІТИННИХ ПОТЕНЦІАЛІВ СЕРЦЕВИХ КЛІТИН

Спеціальність 153 – Мікро- та наносистемна техніка

Галузь знань: 15 – Автоматизація та приладобудування

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 М. О. Шпотак

Науковий керівник: Іванушкіна Наталія Георгіївна, кандидат технічних наук,
доцент

Київ – 2024

АНОТАЦІЯ

Шпотак М. О. Моделювання та аналіз позаклітинних потенціалів серцевих клітин. — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 153 «Мікро- та наносистемна техніка». — Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут ім. Ігоря Сікорського», МОН України, Київ, 2024.

Дисертація присвячена розробці та дослідженню методів моделювання та обробки сигналів електричної активності серцевих клітин та спрямована на вдосконалення методичного та алгоритмічного забезпечення мікроелектродних систем.

Основною задачею дисертаційного дослідження є розробка методу реконструкції потенціалів дії з позаклітинних потенціалів серцевих клітин для оцінювання кардіотоксичності лікарських препаратів на основі аналізу характеристик сигналів електричної активності кардіоміоцитів. Дослідження обумовлене потребою в одночасному записі та аналізі позаклітинних потенціалів та потенціалів дії серцевих клітин в мікроелектродних системах. Математична реконструкція є альтернативою інвазивним рішенням, що можуть пошкодити клітини, та дозволяє розширити інформаційно-алгоритмічне забезпечення мікроелектродних систем для оцінювання кардіотоксичності препаратів.

У першому розділі проведено огляд наукових джерел стосовно дослідження електрофізіології кардіоміоцитів та оцінювання кардіотоксичності за допомогою сучасних технологій. Було встановлено, що метод локальної фіксації потенціалу клітинної мембрани (patch-clamp) є золотим стандартом для дослідження впливу препаратів на клітини. Проте, його використання може бути неоптимальним у разі тривалих досліджень та потреби у високій пропускній здатності. Системи з мікроелектродними решітками, хоча і простіші у використанні та мають високу пропускну здатність, але теж не позбавлені обмежень. По-перше, записи позаклітинних потенціалів в системах з мікроелектродними решітками є

низькоамплітудними (мкВ) та змішуються з шумом від різних джерел. Це робить необхідним процес видалення шуму, який може включати в себе використання фільтрів для видалення небажаних частот, а також використання статистичних методів для ідентифікації та видалення аномальних значень. По-друге, нездатність систем з мікроелектродними решітками записувати потенціали дії клітин без значних модифікацій пристрою обмежує можливості для досліджень клітин серця, а модифіковані системи, які здатні записувати локальні потенціали дії, мають свої проблеми. Системи, що обладнані лазером для оптопорації, можуть викликати фототоксичність, а системи, що використовують електропорацію, можуть пошкодити клітину внаслідок інтенсивної стимуляції. Обидва методи вимагають додаткових модифікацій системи, що збільшує технологічну складність приладу та підвищує його вартість. Також було обґрунтовано, що математична реконструкція потенціалів дії з позаклітинних потенціалів може бути використана як безпечна альтернатива, яка дозволяє отримувати інформацію про потенціали дії без фізичного втручання в клітинну структуру, що може сприяти більш точній оцінці ризику кардіотоксичності. Таким чином, основними напрямками розвитку методичного та алгоритмічного забезпечення мікроелектродних систем для оцінювання кардіотоксичності лікарських препаратів є вдосконалення стандартних та створення нових методів обробки та моделювання сигналів електричної активності серцевих клітин.

У другому розділі проведено огляд математичних моделей потенціалів дії та підходів до отримання позаклітинних потенціалів. Сучасні високодеталізовані моделі клітин намагаються враховувати всі іонні канали, транспортери та динаміку іонних концентрацій, що дозволяє отримати реалістичні симуляції потенціалів дії та біоелектричних процесів. З метою полегшення процесу ідентифікації параметрів та спрощення розрахунків для моделювання електричної активності великої популяції клітин було проведено роботу над вдосконаленням моделі паралельних провідностей із струмами K, Na і Ca. Струми високодеталізованої моделі електричної активності синоатріального вузла людини було об'єднано у групи трьох загальних струмів. Параметри

вдосконаленої моделі були підібрані таким чином, щоб морфології її струмів відповідали узагальненим струмам високодеталізованої моделі. В результаті, була отримана модель, яка має значно менше диференціальних рівнянь та параметрів, але здатна симулювати потенціали дії з морфологією, наближеною до високодеталізованої моделі. Доповнення моделі паралельних провідностей рівняннями позаклітинних потенціалів на основі теорії поля дало змогу отримати бідоменну модель, а використання бідоменого підходу дозволило моделювати позаклітинні потенціали синоатріальних серцевих клітин людини.

У третьому розділі розроблено методику реконструкції потенціалів дії N серцевих клітин з їхніх позаклітинних потенціалів для систем з багатьма електродами. Ця методика була адаптована для різних випадків, включаючи синхронні та асинхронні потенціали дії, однакові та різні потенціали дії, а також групи клітин з синхронними та однаковими потенціалами дії. Для N клітин з різними потенціалами дії було розроблено підхід, який дозволяє проводити реконструкцію з $N+1$ позаклітинних потенціалів. Цей підхід передбачає, що потенціали дії можуть бути синхронними або асинхронними, а також однаковими або різними. Для випадку з N клітинами з синхронними та однаковими потенціалами дії, було розроблено підхід реконструкції усередненого потенціалу дії з будь-яких 2-х з $N+1$ позаклітинних потенціалів. Також було розглянуто сценарій, коли потенціали дії є однаковими, але асинхронними. В цьому випадку, реконструйований усереднений потенціал дії матиме порушену морфологію, тому необхідно реконструювати N потенціалів дії окремо, використовуючи $N+1$ позаклітинних потенціалів. Аналогічна проблема присутня і для синхронних, але різних потенціалів дії. Щоб вирішити проблему, коли кількість клітин перевищує кількість електродів, було розроблено підхід з поділом клітин на групи, в яких потенціали дії вважаються синхронними та однаковими. Таким чином, для реконструкції потенціалів дії N клітин, об'єднаних в M груп, достатньо мати $M+1$ позаклітинних потенціалів. Описано методику визначення синхронності потенціалів дії на основі методу реконструкції потенціалів дії для багатьох клітин. Розв'язано задачу ідентифікації відстаней між клітинами та електродами на основі

запропонованого бідоменного підходу та геометрії мікроелектродних решіток. Отримано аналітичний розв'язок для визначення відстаней від електродів до клітини в 1-вимірному та 2-вимірному випадках для реалізації методу реконструкції потенціалів дії з позаклітинних потенціалів в системах з мікроелектродними решітками.

У четвертому розділі проведено порівняльний аналіз різних методів знешумлення позаклітинних потенціалів, включаючи вейвлет перетворення, метод власних підпросторів та комплексний метод знешумлення. Дослідження виявило, що підхід з комплексним методом показав найкращі результати. Було проаналізовано ризик кардіотоксичності лікарських препаратів, використовуючи реконструйовані потенціали дії. Запропоновано підхід розширення набору даних для машинного навчання і проведено класифікацію позаклітинних потенціалів за групами ризику кардіотоксичності та концентраціями препарату використовуючи метод k-найближчих сусідів. Оцінено ефективність параметрів, що використовуються для класифікації, і виявлено, що додаткові параметри, отримані з реконструйованих потенціалів дії, можуть підвищувати точність класифікації.

Наукова новизна отриманих результатів:

1. На основі теорії поля та схемотехнічної моделі клітинної мембрани розроблено метод реконструкції потенціалів дії серцевих клітин з позаклітинних потенціалів, що дозволяє визначати додаткові характеристики електричної активності кардіоміоцитів для оцінювання кардіотоксичності лікарських препаратів в мікроелектродних системах.
2. Розроблено методику визначення синхронних та асинхронних потенціалів дії популяцій клітин для систем з багатьма електродами, особливістю якої є використання позаклітинних потенціалів з різних електродів для перевірки синхронності електричної активності кардіоміоцитів.
3. Вдосконалено модель паралельних провідностей серцевих клітин синоатріального вузла людини шляхом узагальнення основних іонних струмів, що скорочує кількість параметрів моделі, але зберігає складність морфології

основних фаз потенціалу дії та автоматизм в генерації ПД.

Практичне значення отриманих результатів:

1. На основі запропонованого методу реконструкції розроблено програмне забезпечення, що дозволяє відновлювати потенціали дії кардіоміоцитів з позаклітинних потенціалів, записаних мікроелектродними системами у відповідності з параметрами модельного або лабораторного експерименту.
2. Запропонований метод аналізу та обробки позаклітинних потенціалів дає змогу підвищити відношення амплітуди сигналу до шуму та проводити оцінку ризику кардіотоксичності препаратів в мікроелектродних системах.
3. Вдосконалена модель паралельних провідностей серцевих клітин синоатріального вузла людини на основі загальних струмів K , Na та Ca дозволяє за рахунок зменшення кількості диференціальних рівнянь спростити процес ідентифікації параметрів та моделювання електричної активності популяцій клітин для досліджень з реконструкції потенціалів дії в мікроелектродних системах.
4. Вдосконалено алгоритм класифікації позаклітинних потенціалів за групами ризику кардіотоксичності та концентраціями препарату, який дозволяє розширювати набір даних для машинного навчання за допомогою використання ознак реконструйованих потенціалів дії.
5. Розроблено комплекс програм обробки, аналізу та класифікації сигналів електричної активності кардіоміоцитів, що розширює інформаційно-алгоритмічне забезпечення мікроелектродних систем для автоматизованого оцінювання кардіотоксичності серцевих препаратів.

Ключові слова: математичне моделювання, мікроелектродні системи, потенціали дії, позаклітинні потенціали, серцеві клітини, реконструкція, обробка сигналів, знешумлення, машинне навчання, k -найближчих сусідів, кардіотоксичність препаратів.

ABSTRACT

Shpotak M. O. Modelling and analysis of extracellular potentials of cardiac cells.
— Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 153 "Micro- and nanosystem engineering". — National Technical University of Ukraine "Ihor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute", MES of Ukraine, Kyiv, 2024.

The dissertation is devoted to the development and research of methods for modelling and processing of signals of heart cells' electrical activity and aimed at improvement of methodical and algorithmic support of microelectrode systems.

The main task of the dissertation research is to develop a method of reconstructing the action potentials from extracellular potentials of cardiac cells for the drug cardiotoxicity evaluation based on the analysis of the characteristics of the electrical activity signals of cardiomyocytes. The study is due to the need for simultaneous recording and analysis of extracellular potentials and action potentials of heart cells in microelectrode systems. The mathematical reconstruction is proposed as an alternative to invasive solutions that can damage cells, and allows expanding the informational and algorithmic support of microelectrode systems for evaluating the cardiotoxicity of drugs.

In the first chapter, a review of scientific sources was conducted regarding the study of electrophysiology of cardiomyocytes and assessment of cardiotoxicity using modern technologies. It has been established that the patch-clamp method is the gold standard for studying the effects of drugs on cells. However, its use may not be optimal for long experiments or when high throughput is required. Although systems with microelectrode arrays are easier to use and have high throughput, they also have critical limitations. First, the recordings of extracellular potentials in microelectrode array systems have low amplitude and are often mixed with noise from various sources. This necessitates a denoising process, which can include the use of filters to remove unwanted frequencies, as well as the use of statistical methods to identify and remove outliers. Second, the inability of microelectrode array systems to record cell action

potentials without significant device modifications limits the possibilities for cardiac cell research. Modified microelectrode array systems that are capable of recording local action potentials have their own challenges. Systems equipped with a laser for optoporation can cause phototoxicity, and systems using electroporation can cause damage the cell with stimulation. Both methods also require additional microelectrode array system modifications, which increases the technological complexity of the device and its cost. Mathematical reconstruction of action potentials from field potentials can be used as a safe alternative that allows obtaining information about action potentials without physically interfering with the cellular structure, which can contribute to a more accurate assessment of the risk of drug cardiotoxicity. Thus, the main directions of the development of methodical and algorithmic support of microelectrode systems for evaluating the cardiotoxicity of drugs are the improvement and development of methods for processing and modelling of signals of heart cells' electrical activity.

The second chapter reviews the mathematical models of action potentials and approaches to obtaining extracellular potentials. Modern cardiac cell models are highly detailed and try to incorporate all discovered ion channels, transporters and dynamics of ion concentrations. This approach allows to obtain realistic simulations of action potentials and bioelectrical processes. To streamline the process of model parameter identification and minimize the computational load of simulating the electrical activity of a large population of cells, a modified model of parallel conductances with K, Na, and Ca currents has been proposed. The currents of the highly detailed model of the electrical activity of the human sinoatrial node cell were integrated into groups of three general currents. The parameters of the modified model were finetuned in such a way that the waveforms of its currents corresponded to the generalized currents of the highly detailed model. As a result, the obtained model has significantly fewer differential equations and parameters, but is able to simulate action potentials with a morphology similar to that of a highly detailed model. Supplementing the model of parallel conductions with the equations of extracellular potentials based on the field theory made it possible to obtain a two-domain model. The use of a two-domain approach allowed to model the extracellular potentials of human sinoatrial heart cells for further study and

analysis.

In the third chapter, a technique for reconstructing the action potentials of N cardiac cells from their extracellular potentials for multielectrode systems was developed. This technique has been adapted for different cases, including synchronous and asynchronous action potentials, identical and different action potentials, and groups of cells with synchronous and identical action potentials. For N cells with different action potentials, an approach was developed, that allows reconstruction from $N+1$ extracellular potentials. This approach is general, so the action potentials can be synchronous or asynchronous, as well as the identical or different. For the case of N cells with synchronous and identical action potentials, an approach was developed to reconstruct the averaged action potential from any 2 of $N+1$ extracellular potentials. A case with identical but asynchronous action potentials has also been considered. If the action potential is reconstructed with an averaged approach, it will have a distorted morphology. In order to avoid this, it is necessary to reconstruct N action potentials separately using $N+1$ extracellular potentials. The same issue is present for synchronous but different action potentials. To solve the problem when the number of cells exceeds the number of electrodes, an approach was developed to divide the cells into groups in which the action potentials are assumed to be synchronous and identical. Thus, to reconstruct the action potentials of N cells united in M groups, it is sufficient to have $M+1$ extracellular potentials. The method of determining the synchronicity of action potentials based on the proposed reconstruction approach is described. An analytical solution was derived to calculate the distances from the electrodes to the cell in 1-dimensional and 2-dimensional cases based on the proposed two-domain approach and the geometry of the microelectrode array. This solution was designed to address the problem of parameter identification for the implementation of the method of action potential reconstruction from extracellular potentials in systems with microelectrode arrays.

In the fourth chapter, a comparative analysis of field potential denoising methods was carried out, including wavelet transform, the method of eigen subspaces and the

complex denoising method. The study found that the complex method showed the best results. The cardiotoxicity risk of drugs was analysed using reconstructed action potentials. An approach to expanding the data set for machine learning was proposed and the classification of extracellular potentials by cardiotoxicity risk groups and drug concentrations using the k-nearest neighbours method was performed. An evaluation of the parameters used for classification revealed that incorporating additional parameters, derived from reconstructed action potentials, could enhance the accuracy of classification.

Scientific novelty of the obtained results:

1. On the basis of the field theory and the schematic model of the cell membrane, a method of reconstructing the action potentials of heart cells from extracellular potentials has been developed, which allows determining additional characteristics of the electrical activity of cardiomyocytes for evaluating the cardiotoxicity of drugs in microelectrode systems.
2. A technique for determining synchronous and asynchronous action potentials of cell populations for systems with many electrodes has been developed, the feature of which is the use of extracellular potentials from different electrodes to check the synchrony of the electrical activity of cardiomyocytes.
3. The model of parallel conduction of cardiac cells of the human sinoatrial node has been improved by generalizing the main ion currents, which reduces the number of model parameters and differential equations, but preserves the morphological complexity of the action potential.

Practical significance of the obtained results:

1. On the basis of the proposed method of reconstruction, software was developed that allows to restore the action potentials of cardiomyocytes from extracellular potentials recorded by microelectrode systems in accordance with the parameters of a model or laboratory experiment.
2. The proposed method of analysis and processing of extracellular potentials makes it

possible to increase the ratio of the amplitude of the signal to the noise and assess of the risk of cardiotoxicity of drugs in microelectrode systems.

3. The improved model of parallel conduction of cardiac cells of the human sinoatrial node based on the total currents of K, Na and Ca allows to reduce the number of differential equations and simplify the process of identifying model parameters to simulate the electrical activity of cell populations for action potential reconstruction research in microelectrode systems.
4. The proposed algorithm for the classification of extracellular potentials by cardiotoxicity risk groups and drug concentrations allows to expand the dataset for machine learning by using the features of the reconstructed action potentials.
5. A complex of programs for processing, analysing, and classifying of signals of cardiomyocytes' electrical activity has been developed, which expands the informational and algorithm support of microelectrode systems for automated assessment of drug cardiotoxicity.

Key words: mathematical modelling, microelectrode systems, action potentials, extracellular potentials, cardiac cells, reconstruction, signal processing, denoising, machine learning, k-nearest neighbours, drug cardiotoxicity.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ

Статті, в яких опубліковані основні результати дисертації:

- [1] N. G. Ivanushkina, K. O. Ivanko, M. O. Shpotak, i Y. V. Prokopenko, «Solving the Inverse Problem of Relationship Between Action Potentials and Field Potentials in Cardiac Cells», *Visnyk NTUU KPI Seriiia - Radiotekhnika Radioaparotobuduvannia*, вип. 85, с. 53–59, Чер 2021, doi: 10.20535/RADAP.2021.85.53-59.
- [2] Н. Г. Іванушкіна, К. О. Іванько, М. О. Шпотак, і Ю. В. Прокопенко, «Реконструкція потенціалів дії серцевих клітин з позаклітинних потенціалів поля», *Вісті вузів. Радіoeлектроніка*, вип. 65, вип. 7, с. 420–432, Лип 2022, doi: 10.20535/S0021347022090047.
- [3] М. О. Shpotak, N. G. Ivanushkina, K. O. Ivanko, i Y. V. Prokopenko, «Estimation of Multiple Cardiac Cells' Action Potentials From Extracellular Field Potentials», *Visnyk NTUU KPI Seriiia - Radiotekhnika Radioaparotobuduvannia*, вип. 93, с. 70–77, Вер 2023, doi: 10.20535/RADAP.2023.93.70-77.
- [4] М. О. Shpotak i N. G. Ivanushkina, «Application of k-Nearest Neighbors Method for Drug Concentration and Cardiotoxicity Classification Using Extracellular Field Potentials and Reconstructed Action Potentials of Cardiac Cells», *Miscrosystems, Electronics and Acoustics*, вип. 29, вип. 1, 2024, doi: 10.20535/2523-4455.me.295601.

Праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

- [1] М. Shpotak, N. Ivanushkina, K. Ivanko, i Y. Prokopenko, «A Model for Simulation of Human Sinoatrial Node Action Potential», в *2022 IEEE 41st International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*, Kyiv, Ukraine: IEEE, Жов 2022, с. 422–425. doi: 10.1109/ELNANO54667.2022.9927001.
- [2] М. О. Шпотак, Н. Г. Іванушкіна, і Ю. В. Прокопенко, «Реконструкція потенціалів дії серцевих клітин з позаклітинних потенціалів у системах з мікроелектродними решітками», в *Матеріали IV Міжнародної науково-технічної конференції «Автоматизація, електроніка, інформаційно-вимірювальні технології: освіта, наука, практика»*, Харків, Україна: НТУ «ХП», Лис 2022, с. 64–65. [Online]. Доступний у: <https://zenodo.org/records/7750728>

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК ОСНОВНИХ УМОВНИХ ПОЗНАК ТА СКОРОЧЕНЬ.....	15
ВСТУП.....	17
РОЗДІЛ 1 МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СЕРЦЕВИХ КЛІТИН.....	23
1.1 Дослідження впливу лікувальних препаратів на серце	23
1.2 Механізми генерації потенціалів дії.....	24
1.3 Порухення електричної активності серцевих клітин.....	26
1.4 Взаємозв'язок потенціалу дії та позаклітинного потенціалу.....	28
1.5 Метод локальної фіксації потенціалу клітинної мембрани	30
1.6 Системи з мікроелектродними решітками.....	31
1.7 Методи реєстрації потенціалів дії в системах з мікроелектродними решітками	34
1.8 Інформаційно-алгоритмічне забезпечення систем з мікроелектродними решітками	37
Висновки до розділу 1	39
РОЗДІЛ 2 МАТЕМАТИЧНІ МОДЕЛІ ПОТЕНЦІАЛІВ ДІЇ ТА ПОЗАКЛІТИННИХ ПОТЕНЦІАЛІВ КЛІТИН СЕРЦЯ	41
2.1 Моделі електричної активності серцевих клітин	41
2.2 Розвиток моделей серцевих клітин.....	43
2.3 Спрощена модель паралельних провідностей для симуляції потенціалів дії клітин синоатріального вузла людини	45
2.3.1 Обґрунтування розробки моделі	45
2.3.2 Вдосконалення моделі паралельних провідностей.....	47
2.3.3 Узагальнення струмів моделі	50
2.3.4 Результати та порівняння моделі	52
2. 4 Моделювання позаклітинного потенціалу на основі потенціалу дії.....	54
Висновки до розділу 2.....	56
РОЗДІЛ 3 РЕКОНСТРУКЦІЯ ПОТЕНЦІАЛІВ ДІЇ СЕРЦЕВИХ КЛІТИН НА ОСНОВІ ЇХНІХ ПОЗАКЛІТИННИХ ПОТЕНЦІАЛІВ.....	57
3.1 Реконструкція потенціалу дії однієї клітини	57
3.2 Реконструкція синхронних потенціалів дії.....	58

3.3 Реконструкція асинхронних потенціалів дії	60
3.4 Реконструкція груп з синхронними потенціалами дії	62
3.5. Ідентифікація відстаней для реконструкції потенціалів дії	64
Висновки до розділу 3	68
РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ ТА КЛАСИФІКАЦІЯ ПОЗАКЛІТИННИХ ПОТЕНЦІАЛІВ ТА РЕКОНСТРУЙОВАНИХ ПОТЕНЦІАЛІВ ДІЇ.....	71
4.1 Обробка позаклітинних потенціалів.....	71
4.1.1 Фільтрація позаклітинних потенціалів.....	71
4.1.2 Сегментація позаклітинних потенціалів	73
4.2 Кардіотоксичність препаратів	75
4.3 Позаклітинні потенціали та потенціали дії в оцінці кардіотоксичності препаратів	78
4.4 Аналіз параметрів потенціалів дії з різними концентраціями препарату DMSO на кардіотоксичність	86
4.5 Класифікація позаклітинних потенціалів за допомогою методу машинного навчання.....	89
4.6 Групи ризику кардіотоксичності препаратів DMSO та Sotalol	92
4.7 Класифікація позаклітинних потенціалів за концентраціями препаратів DMSO та Sotalol.....	95
4.8 Класифікація позаклітинних потенціалів за групами ризику кардіотоксичності препаратів DMSO та Sotalol	96
4.9 Оцінка класифікуючих моделей	97
Висновки до розділу 4.....	99
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	100
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	102
ДОДАТКИ	115
ДОДАТОК А. Список публікацій здобувача за темою дисертації.....	115

ПЕРЕЛІК ОСНОВНИХ УМОВНИХ ПОЗНАК ТА СКОРОЧЕНЬ

МЕР – мікроелектродна решітка

САВ – синоатріальний вузол

АВВ – атріовентрикулярний вузол

ПД – потенціал дії

ПП – позаклітинний потенціал

ЕКГ – електрокардіограма

μ ECG – micro-electrode channel guide

DMSO – англ. dimethylsulfoxide; диметилсульфоксид

RRMSE – англ. relative root mean squared error; відносний корінь середньоквадратичної похибки

t – час

THR – threshold

PP – peak potential

RPP – reconstructed (AP) peak potential

MDP – maximum diastolic potential

RMDP – reconstructed (AP) maximum diastolic potential

FPA – field potential amplitude

APA – action potential amplitude

RAPA – reconstructed action potential amplitude

CL – cycle length

FR – firing rate

PMD – pacemaker duration

RPMD – reconstructed (AP) pacemaker duration

APD – action potential duration

RAPD – reconstructed action potential duration

FPD – field potential duration

FPD_c – corrected field potential duration

MUV – maximum upstroke velocity

MRR – maximum repolarization rate

STV – short-term variability

TN – true negative

TP – true positive

FN – false negative

FP – false positive

k-NN – k-Nearest Neighbors

ВСТУП

Актуальність теми. Кардіотоксичність є поширеним несприятливим побічним ефектом, який може проявлятися під час пошуку, розробки, дослідження або вживання лікувальних препаратів. Ураження серцево-судинної системи, яке може виникати внаслідок кардіотоксичних ефектів, є найчастішою причиною смерті при тяжких гострих отруєннях [1]. За останні півстоліття майже 10% лікувальних препаратів були відкликани з міжнародних ринків через високий ризик для серцево-судинної системи. Незважаючи на те, що за цей час фармакологічна індустрія пододала великий шлях у вдосконаленні технологій для доклінічного тестування ліків, кардіотоксичність залишається одним із провідних ризиків під час використання фармакологічних препаратів [2].

Під час доклінічних випробувань дослідження лікувальних препаратів на кардіотоксичність проводять за допомогою як інвазивних, так і неінвазивних електрофізіологічних технологій. Інвазивний метод локальної фіксації потенціалу клітинної мембрани (patch-clamp) є золотим стандартом фармакологічної індустрії, оскільки він дозволяє досліджувати вплив препаратів на окремі іонні канали або на потенціал дії (ПД) клітини в цілому [3]. Але цей метод обмежений взаємодією з однією клітиною та може призвести до руйнування клітинної мембрани [4]. З іншого боку, мікроелектродні системи, а особливо – системи з мікроелектродними решітками (MER), дозволяють записувати позаклітинні потенціали (ПП) популяції клітин неінвазивно та з більшою пропускнуою здатністю [5, 6].

Під впливом препаратів ПД змінює свою морфологію внаслідок взаємодії ліків з іонними каналами клітини. Різні дози препарату можуть викликати його подовження, скорочення або патологічні пізні та ранні постдеполяризації. Присутність патологій або критична зміна тривалості ПД слугує маркером кардіотоксичності препарату [7]. На відміну від ПД, ПП складніше інтерпретувати, тому що вони представляють собою результат сумарної електричної активності сусідніх клітин. Ця проблема може вирішуватися за

рахунок модифікації мікроелектродних систем з використанням опто- або електропорації, що дозволяє збільшувати проникність мембрани клітини та записувати локальні ПД [8, 9]. Але ці підходи мають свої недоліки – вони потребують складних модифікацій мікроелектродних систем, можуть мати обмеження за тривалістю використання, а також можуть пошкодити клітини [10].

Тому, актуальним є створення методу математичної реконструкції ПД з ПП серцевих клітин для компенсації відсутності можливості запису сигналів ПД серцевих клітин в класичних мікроелектродних системах та як альтернативу інвазивним методам запису ПД, а також для вдосконалення алгоритмічного та програмного забезпечення з метою автоматизації аналізу та оцінювання кардіотоксичності препаратів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Напрямок досліджень пов'язаний з науковою тематикою і темами навчального процесу кафедри електронної інженерії факультету електроніки Національного технічного університету України "Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського". Дослідження виконувалися в рамках держбюджетної теми 2216-р №0119U100628 "Біотелеметрична система централізованої багатопараметричної експрес-діагностики та персонального моніторингу функціонального стану людини" 01.01.2019-31.12.2020, у якій автор брав участь у постановці задачі досліджень, розробки методів обробки сигналів електричної активності серцевих клітин.

Впровадження. Результати роботи з реконструкції ПД із ПП впроваджені в навчальному процесі на кафедрі електронної інженерії ФЕЛ НТУУ «КПІ ім. Ігоря Сікорського» та опубліковані в навчальному посібнику «Прикладна біофізика. Біоелектричні процеси. Лабораторний практикум» для студентів спеціальності 153 «Мікро- та наносистемна техніка», освітньої програми «Електронні мікро- і наносистеми та технології», 2022.

Об'єкт дослідження: електрична активність серцевих клітин.

Предмет дослідження: взаємозв'язок ПП та ПД серцевих клітин в системах

з мікроелектродними решітками.

Мета дослідження: вдосконалення методичного та алгоритмічного забезпечення мікроелектродних систем на основі розробки методу реконструкції ПД з ПП серцевих клітин.

Завдання дослідження:

1. Розробити метод реконструкції ПД з ПП серцевих клітин на основі теорії поля та схемотехнічної моделі електричної активності кардіоміоцитів.
2. Адаптувати розроблений метод реконструкції ПД з ПП серцевих клітин для використання з мікроелектродними системами.
3. Вдосконалити модель ПД серцевих клітин для дослідження електричної активності популяцій клітин в мікроелектродних системах.
4. Розв'язати задачу ідентифікації відстаней між клітинами та електродами в системах з мікроелектродними решітками.
5. Створити програмне забезпечення для обробки та аналізу ПП, записаних за допомогою мікроелектродних систем, та реконструйованих ПД (РПД) для визначення основних параметрів сигналів та оцінки ризику кардіотоксичності.
6. Розробити підхід на основі методів машинного навчання для підвищення точності класифікації ПП за ризиком кардіотоксичності, застосовуючи РПД.

Методи дослідження: цифрова обробка та перетворення сигналів; методи сегментації сигналів та зображень; статистичний аналіз; вейвлет-аналіз; знешумлення за допомогою теорії власних підпросторів; математичне моделювання електричної активності клітин серця; метод k найближчих сусідів.

Наукова новизна отриманих результатів:

1. На основі теорії поля та схемотехнічної моделі клітинної мембрани розроблено метод реконструкції ПД серцевих клітин з ПП, що дозволяє визначати додаткові характеристики електричної активності кардіоміоцитів для оцінювання кардіотоксичності лікарських препаратів в мікроелектродних системах.

2. Розроблено методику визначення синхронних та асинхронних ПД популяцій клітин для мультиелектродних систем, особливістю якої є можливість використання ПП з різних електродів для перевірки синхронності електричної активності кардіоміоцитів.

3. Вдосконалено модель паралельних провідностей серцевих клітин синоатріального вузла людини шляхом узагальнення основних іонних струмів, що скорочує кількість параметрів моделі, але зберігає складність морфології ПД.

Практичне значення отриманих результатів:

1. На основі запропонованого методу реконструкції розроблено програмне забезпечення, що дозволяє відновлювати ПД кардіоміоцитів з ПП, записаних мікроелектродними системами у відповідності з параметрами модельного або лабораторного експерименту.

2. Запропонований метод аналізу та обробки ПП дає змогу підвищити відношення амплітуди сигналу до шуму та проводити оцінку ризику кардіотоксичності препаратів в мікроелектродних системах.

3. Вдосконалена модель паралельних провідностей серцевих клітин синоатріального вузла (САВ) людини на основі загальних струмів K , Na та Ca дозволяє за рахунок зменшення кількості диференціальних рівнянь спростити процес ідентифікації параметрів та моделювання електричної активності популяцій клітин для досліджень з реконструкції ПД в мікроелектродних системах.

4. Вдосконалено алгоритм класифікації ПП за групами ризику кардіотоксичності та концентраціями препарату, який дозволяє розширювати набір тренувальних даних за допомогою використання ознак РПД для машинного навчання.

5. Розроблено комплекс програм обробки, аналізу та класифікації сигналів електричної активності кардіоміоцитів, що розширює інформаційно-алгоритмічне забезпечення мікроелектродних систем для автоматизованого оцінювання кардіотоксичності серцевих препаратів.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є узагальненням результатів досліджень опублікованих у працях [11-16]. У наукових працях, що виконано у співавторстві здобувачеві належить: у [11] – математичне моделювання реконструкції ПД з ПП, розробка комплексного методу знешумлення ПП, порівняння ефективності знешумлення ПП методами власних підпросторів та за допомогою вейвлет-перетворення; у [12] – математичне моделювання реконструкції ПД з ПП для популяцій клітин, проведення статистичного аналізу РПД; у [13] – вдосконалення моделі паралельних провідностей САВ серця людини, математичне моделювання, порівняння морфології ПД різних моделей; у [14] – розробка методики реконструкції асинхронних ПД, математичне моделювання; у [15] – розробка методики реконструкції груп синхронних та асинхронних ПД, математичне моделювання; у [16] – розробка підходу до класифікації ПП за концентраціями та групами ризику кардіотосичності препаратів, математичне моделювання, обробка даних та статистичний аналіз результатів класифікації.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень, що включені в дисертацію, доповідалися на IV Міжнародній науково-практичній конференції "АВТОМАТИЗАЦІЯ, ЕЛЕКТРОНІКА, ІНФОРМАЦІЙНО-ВИМІРЮВАЛЬНІ ТЕХНОЛОГІЇ: ОСВІТА, НАУКА, ПРАКТИКА" у 2022 р. у м. Харкові та на 41-й Міжнародній науково-технічній конференції IEEE "ELECTRONICS AND NANOTECHNOLOGY" ("Електроніка і нанотехнології") (ELNANO-2022) у м. Києві.

Публікації. Основні результати дисертації опубліковані в 4 статтях у фахових наукових журналах та у 2 збірниках наукових праць міжнародних конференцій.

Структура й обсяг роботи. Дисертаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків та зі списку використаних джерел з 102 найменувань. Робота містить 32 ілюстрації, 12 таблиць. Обсяг роботи складає 102 сторінки тексту.

Автор висловлює велику подяку за наукові консультації к.т.н., доценту Іванушкіній Наталії Георгіївні та д. т. н., доценту Прокопенку Юрію Васильовичу, а також за надані записи ПП серцевих клітин співробітникам Міланської політехніки професору А. Редаеллі та доктору філософії Р. Візоне.

РОЗДІЛ 1

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СЕРЦЕВИХ КЛІТИН

1.1 Дослідження впливу лікувальних препаратів на серце

Вивчення впливу лікувальних препаратів на серце є одним з ключових напрямків у медичних дослідженнях. Ця тема є особливо актуальною, оскільки захворювання серця залишаються однією з провідних причин смертності в усьому світі. Експериментальні методи дозволяють дослідити, як різні препарати впливають на функціонування серця, включаючи його ритм, силу скорочень та відповідь на стрес.

Електрокардіографія є невід'ємною частиною сучасної медицини та широко використовується для діагностики серцево-судинних захворювань. Електрокардіограма представляє собою запис електричної активності серцевого м'язу з поверхні тіла, який характеризується зубцями та інтервалами, що відповідають різним етапам серцевого скорочення. Виділяють шість окремих компонентів сигналу ЕКГ: Р зубець, PQ інтервал, QRS комплекс, ST інтервал, T зубець та U зубець.

Різні фази ЕКГ характеризують собою сумарну електричну активність клітин з різних ділянок серця. Така здатність локалізувати причину патологічної активності в серці робить електрокардіографію одним з основних електрофізіологічних методів в клінічних випробуваннях, тобто у дослідженні впливу лікувальних препаратів на людей. Електрокардіографію також можуть використовувати в доклінічних *in vivo* дослідженнях під час тестування препаратів на тваринах. Однак, до того як лікувальні препарати допускають до *in vivo* досліджень, вони мають пройти низку *in vitro* випробувань, тобто, досліджень «в пробірці». *In vitro* дослідження проводять над штучно вирощеними або ізольованими тканинами/клітинами; мета таких досліджень — оцінити вплив різних доз препарату та їхню фармакокінетику. Після ретельного вивчення препарату в *in vitro* дослідженнях та висновків щодо його ефективності,

його можуть допустити до *in vivo* випробувань [17, 18]. Одна з відмінностей між клінічними та доклінічними випробуваннями полягає в методах, що використовують для досліджень та, відповідно, в джерелах сигналів, які реєструються. Отже, електрокардіографія дозволяє проводити дослідження з вимірюванням сумарної електричної активності серцевого м'язу, а в *in vitro* дослідженнях записують електричну активність окремих клітин, культур клітин або тканин – їхні ПД або ПП.

In vitro дослідження дозволяють розглядати електричну активність клітин та тканин більш детально, але цей підхід обмежується необхідністю вибору типу клітин для досліджень. Серцеві клітини поділяють на два типи: типові та атипові. Типовими називають серцеві клітини, які складають більшу частину міокарду та відповідають за скорочення серцевого м'язу. Атипові кардіоміоцити формують провідну систему серця. На відміну від типових вони здатні самотійно генерувати ПД, тому їх також називають водіями ритму або пейсмейкерними клітинами. Саме провідна система серця регулює серцевий ритм. У здоровому серці серцевий ритм відповідає синусовому ритму, який створюється клітинами САВ, що знаходиться у правому передсерді. Після генерації в САВ ПД поширюються за допомогою навколишніх типових кардіоміоцитів та далі провідною системою серця, що відповідає за правильну послідовність поширення ПД іншими ділянками серця. Таким чином, скорочення міокарду відбувається за рахунок генерації та поширення ПД пейсмейкерних клітин [19].

1.2 Механізми генерації потенціалів дії

У ПД типового кардіоміоцита (рис.1.1а) виділяють п'ять фаз: швидка деполяризація (фаза 0), початкова швидка реполяризація (фаза 1), повільна реполяризація або плато (фаза 2), швидка кінцева реполяризація (фаза 3) та фаза спокою (фаза 4). У ПД атипових клітин (рис. 1.1б), таких як клітин САВ або атріовентрикулярного вузла (АВВ) фази 1, 2 відсутні, а замість фази спокою присутня фаза повільної деполяризації.

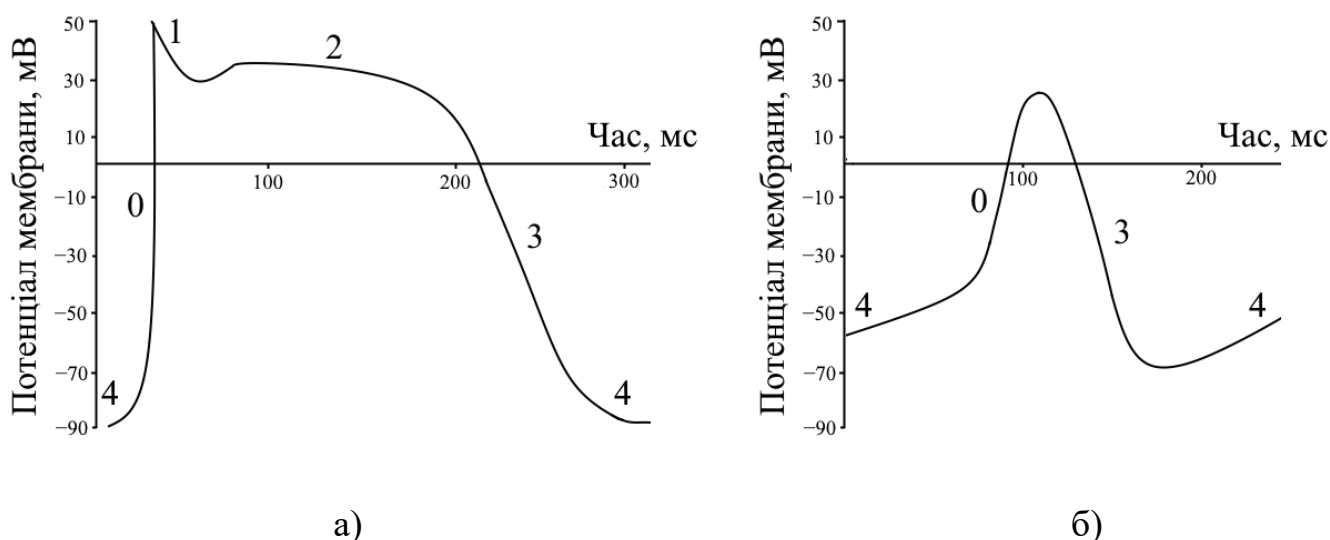


Рис. 1.1 Фази ПД типового (а) та атипового кардіоміоцитів (б)

Фаза швидкої деполяризації настає, коли напруга на мембрані перевищує пороговий потенціал, що зумовлює відкриття потенціал-залежних натрієвих каналів. Відкриті натрієві канали збільшують проникність мембрани для іонів натрію, а градієнт концентрації іонів зумовлює їхню дифузію всередину клітини. Підвищення мембранного потенціалу за рахунок масового надходження іонів натрію в клітину спричиняє повільне закриття потенціал-залежного натрієвого каналу та визначає закінчення фази швидкої деполяризації.

За фази початкової швидкої реполяризації натрієві канали починають пропускати менше іонів натрію, але одночасно відкриваються та закриваються калієві канали, які спричиняють короткостроковий витік калієвих іонів з клітини, що надає ПД типових серцевих клітин характерний пік.

Фаза плато характеризується постійним мембранним потенціалом, який є результатом досягнення балансу між іонами, що рухаються всередину та назовні клітини. Цей баланс підтримується здебільшого виходом іонів калію та входом іонів кальцію в клітину.

Під час фази швидкої кінцевої реполяризації кальцієві канали зачиняються, а калієві залишаються відкритими, що призводить до зниження мембранного потенціалу.

Фаза спокою досягається, коли мембранний потенціал сягає нижнього

порогу, що супроводжується частковим закриттям калієвих каналів. В цій фазі іонні канали та помпи забезпечують стабільний мембранний потенціал, поки зовнішня стимуляція від оточуючих клітин не призведе до різкої зміни мембранного потенціалу та швидкої деполяризації.

Отже, іонні канали та помпи відповідають за мембранні струми, що формують ПД та його фази. Схоже з тим, як ЕКГ дозволяє оцінити функціональний стан серця пацієнта за допомогою аналізу сегментів сигналу, так і аналіз фаз ПД дозволяє зрозуміти, які струми відповідальні за формування морфології ПД.

Однак для оцінки активності серцевих клітин та тканин також необхідно враховувати міжклітинну взаємодію. Синхронізація ПД між сусідніми клітинами регулює загальну активність органа та відіграє ключову роль у координованому скороченні міокарда. Міжклітинні щілинні контакти створюють низькоомні шляхи для протікання іонів та малих молекул між сусідніми клітинами. Ця організація сприяє ефективному поширенню деполяризуючих струмів в міокарді, що, в свою чергу, забезпечує швидку та синхронну деполяризацію ПД клітин серцевих тканин [19].

1.3 Порушення електричної активності серцевих клітин

Порушення електричної активності серцевих клітин, що відображаються на ПД, можуть проявлятися у різних формах, таких як подовження та скорочення ПД, а також ранні або пізні постдеполяризації. Вони виникають через зміни в роботі або експресії іонних каналів, які можуть бути наслідками впливу фармакологічних препаратів або генетичних мутацій [20].

Подовження ПД здебільшого виникає через зменшення витоку калію з клітини або збільшення притоку натрієвих іонів в клітину. Деякі препарати можуть подовжувати ПД блокадою кальцієвих каналів, тобто мати проаритмічні ефекти [21]. І навпаки, збільшення калієвих струмів [22] або натрієвих струмів [23] може призвести до скорочення ПД за рахунок швидшої фази реполяризації.

Скорочення та подовження ПД прямо відображаються на ПП, що робить тривалість ПП одним із основних маркерів кардіотоксичності препаратів [24].

Ранні постдеполяризації часто викликаються дисфункцією кальцієвих каналів [25] або ранньою реактивацією натрієвих каналів [26], призводячи до вторинного піку під час фази реполяризації. У ПП ранні постдеполяризації ділять повільний пік відповідальний за реполяризацію ПД на декілька окремих піків [27]. Пізні постдеполяризації виникають після повної реполяризації і викликаються спонтанним вивільненням кальцію з саркоплазматичного ретикулуму [28].

Лікарські препарати для серця виготовляються з метою впливу на іонні канали, щоб посилити або послабити їхню активність та, відповідно, змінити параметри ПД, такі як амплітуда, тривалість та частота. Сучасна класифікація антиаритмічних препаратів нараховує 7 класів в залежності від їх механізму дії [29]. Вона є модифікованою версією оригінальної класифікації Вогена-Вільямса, що мала 4 основних класи:

Клас I включає препарати, які блокують натрієві канали, в основному впливаючи на 0-ву фазу ПД. Це призводить до зниження швидкості деполяризації, що затримує проведення імпульсу через міокард. Різні підгрупи цього класу (Ia, Ib, Ic) можуть мати додатковий вплив на 3-тю та 4-ту фази, але їх основний ефект спрямований на 0-ву фазу.

Препарати класу II, або бета-адреноблокатори, в основному, впливають на 4-ту фазу ПД. Інгібування бета-адренергічних рецепторів знижує активність катехоламінів, що призводить до зниження частоти серцевих скорочень та потреби міокарда в кисні.

Клас III антиаритмічних препаратів блокує калієві канали, в основному, впливаючи на 3-тю фазу ПД. Це забезпечує подовження тривалості ПД та рефрактерного періоду, знижуючи ймовірність виникнення аритмій.

Препарати класу IV, які є блокаторами кальцієвих каналів, впливають на 2-

гу фазу ПД. Зниження проникнення кальцію в клітини міокарда призводить до зниження сили скорочення міокарда та затримки поширення ПД в провідній системі серця.

Таким чином, різні класи антиаритмічних препаратів впливають на конкретні іонні канали та фази ПД, що дозволяє регулювати електричну активність серцевих клітин в залежності від типу аритмії та фізіологічного стану пацієнта. Однак, регулювання проникності іонних каналів за допомогою препаратів не позбавлене проблем. Важливо зазначити, що антиаритмічні препарати можуть впливати не тільки на серце, але і на інші органи, оскільки канали, на які вони впливають, можуть зустрічаються в різних тканинах [30].

1.4 Взаємозв'язок потенціалу дії та позаклітинного потенціалу

Позаклітинні потенціали (ПП) – це електричні сигнали, що реєструються за межами клітинної мембрани і формуються під впливом потенціалів поля, згенерованих оточуючими клітинами. Механізм формування ПП клітини може бути розглянутий на різних рівнях: молекулярному, клітинному та тканинному. На молекулярному рівні іонні канали та помпи забезпечують рух іонів через клітинну мембрану, створюючи внутрішній та зовнішній електричні потенціали. На клітинному рівні генерування та поширення ПД вздовж мембрани клітини веде до створення локальних ПП. На тканинному рівні синхронізація клітинних ПД між сусідніми клітинами приводить до утворення усередненого ПП.

Взаємозв'язок між параметрами ПД та ПП клітин (рис. 1.2) є особливо важливим у дослідженні лікувальних препаратів. Неінвазивні методи вимірювання, такі як системи з МЕР, дозволяють використовувати записи ПП для оцінювання впливу зовнішніх чинників на ПД клітин.

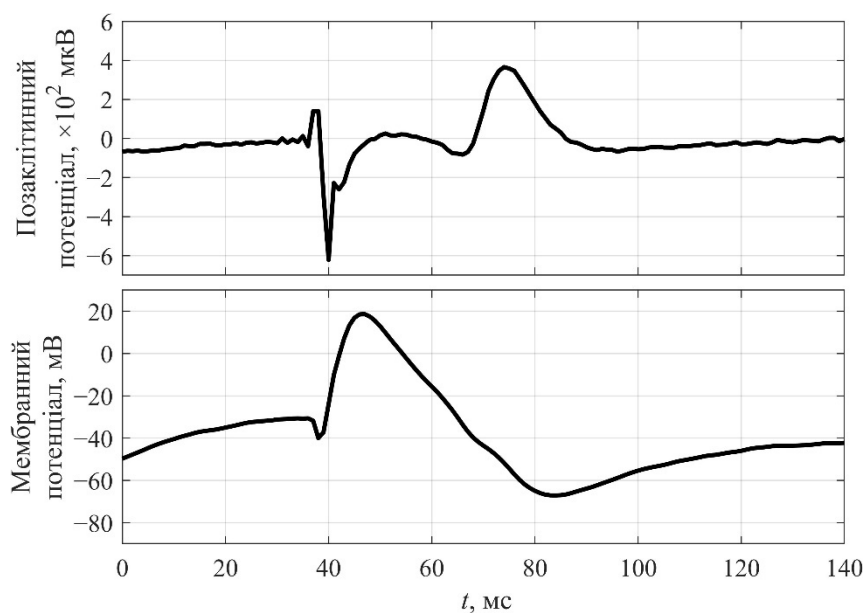


Рис. 1.2 Взаємозв'язок ПП (зверху) та ПД (знизу) клітин серця

Важливим аспектом аналізу сигналів ПП є визначення на них фаз ПД. Фаза деполяризації ПД, що характеризується швидким надходженням іонів натрію в клітину, зазвичай пов'язана з позитивним відхиленням ПП. І навпаки, фаза реполяризації, під час якої відбувається витік іонів калію, відповідає негативній амплітуді ПП. Форма і тривалість ПП можуть надати уявлення про ПД, однак їхній взаємозв'язок не завжди є простим та однозначним через вплив оточуючих клітин і тканин [31].

В тканинах або культурах клітин з асинхронними ПД, ПП мають менш визначену морфологію через суперпозиції асинхронних ПП різних клітин, а коли ПД синхронізовані, то суперпозиція скоординованих ПП має більш «чітку» морфологію [32].

Іншим важливим аспектом є амплітуда зареєстрованих ПП. У той час як амплітуда ПД значною мірою залежить від типу серцевих клітин [33], для ПП амплітуда може значно відрізнитися через низку зовнішніх факторів. Зокрема, на записаний електродом ПП впливає електрична активність усіх оточуючих його клітин. Тому ПП не є простим відображенням ПД, що лежать в їхній основі, адже амплітуда та морфологія ПП залежать від просторового розташування клітин та електродів [34], синхронності деполяризації клітин [35] та провідності

середовища. Ці фактори можуть вносити складнощі у визначення взаємозв'язку між ПД і ПП, що робить необхідним використання технологій одночасного запису ПД та ПП [9] для більш точної та зрозумілої інтерпретації.

1.5 Метод локальної фіксації потенціалу клітинної мембрани

Метод локальної фіксації потенціалу клітинної мембрани (patch-clamp) був розроблений на початку 1980-х років Ервіном Неєром та Бертом Закманом та досі вважається «золотим стандартом» для дослідження електричної активності клітин та властивостей клітинної мембрани. Цей метод дозволяє прикріпити скляний мікроелектрод з малим діаметром отвору до ділянки клітинної мембрани, створюючи високоомний електричний контакт. Таким чином можна контролювати різницю потенціалів з обох боків мембрани та вимірювати електричний струм, що протікає через окремі іонні канали цієї ділянки. Цей підхід є незамінним для детального аналізу механізмів дії різних антиаритмічних препаратів, що взаємодіють з іонними каналами.

У фармацевтиці метод patch-clamp використовується для вивчення властивостей нових препаратів в процесі їхньої розробки чи тестування. Зокрема, за допомогою patch-clamp можна досліджувати, як препарати взаємодіють з конкретними іонними каналами, та яким чином вони впливають на окремі іонні струми або ПД клітини. Це дозволяє дослідникам зрозуміти, як такі фактори, як зміна ізоформ або експресії іонних каналів, впливатимуть на функціонування серця загалом [36].

Водночас, метод patch-clamp має певні обмеження. По-перше, він технічно складний і вимагає високої кваліфікації експериментатора, оскільки процедура запису є трудомісткою через необхідність обережної взаємодії з клітинною мембраною, щоб не зруйнувати її та захопити необхідні іонні канали. По-друге, система patch-clamp може взаємодіяти лише з однією клітиною, що обмежує паралельність експериментів. По-третє, patch-clamp непридатний для тривалих експериментів через нестабільність контакту між електродом і мембраною [37].

Щоб подолати деякі з цих недоліків, було розроблено автоматизовані системи patch-clamp із паралельними підведеннями електродів до багатьох клітин одночасно. Такі платформи дозволяють зменшити поріг кваліфікації експериментатора та забезпечити високу пропускну здатність досліджень на іонних каналах клітин [37].

1.6 Системи з мікроелектродними решітками

Перші МЕР були розроблені у 1950 роках, а перший експеримент з використанням решітки планарних електродів для запису ПП клітин серця був проведений Чарльзом А. Томасом-молодшим та його колегами у 1972 році [38]. Системи з МЕР широко застосовуються в різних галузях біомедичних досліджень, зокрема в неврології, кардіології та фармакології. У неврології МЕР використовуються для вивчення електричної активності нейронів [39], у кардіології – для дослідження електричних властивостей культур клітин і тканин серця [40, 41], а у фармакології – для дослідження впливу фармацевтичних сполук на електричну активність клітин [42].

В той час, коли метод patch-clamp був розроблений для вивчення електрофізіології клітини шляхом івазивної взаємодії з клітинною мембраною, дослідження з використанням МЕР дозволяють здійснювати неінвазивний моніторинг позаклітинної електричної активності клітин. Хоч системи з МЕР і не надають тієї роздільної здатності та точності, що й метод patch-clamp та не здатні прямо записувати ПД, але вони мають менший кваліфікаційний поріг, високу пропускну здатність, та надають можливість вивчати локальні ПП культур клітин та глобальні зміни в електричній активності тканини.

В класичних системах з МЕР використовуються планарні електроди, які записують локальні потенціали, що поширюються в позаклітинному просторі найближчих до них клітин. Така реєстрація електричних сигналів є неінвазивною, що є особливо корисним в довготривалих дослідженнях, де збереження цілісності клітинної мембрани має вирішальне значення [43, 44].

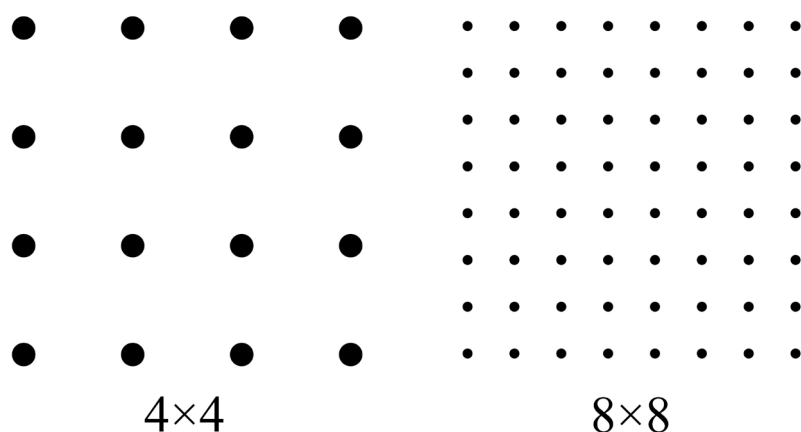
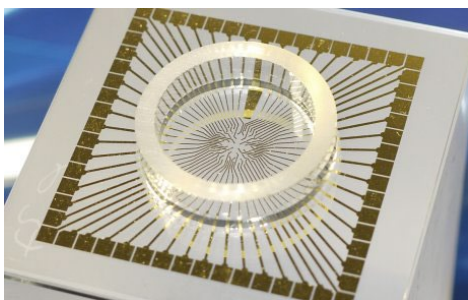


Рис. 1.3 Геометрія електродів системи з МЕР для різних розмірів решіток

Масив електродів в МЕР розташований на підкладці у вигляді решітки з певним інтервалом та геометрією (рис. 1.3). Кількість електродів в решітці може варіюватися від десятків до тисяч електродів; більша кількість електродів забезпечує вищу просторову роздільну здатність. Електричні та механічні властивості матеріалу електродів безпосередньо впливають на їхню функціональність. Зокрема, електропровідність матеріалу визначає ефективність електричної стимуляції клітин та реєстрації сигналу, тоді як механічні властивості, такі як гнучкість та зносостійкість, є критичними для забезпечення надійності МЕР під час маніпуляцій та тривалої експлуатації [45].

МЕР складається з підкладки на якій розташовують масив мікроелектродів та доріжок (рис. 1.4а). Електроніка для запису сигналів може бути інтегрованою в чип [46] або розташовуватися на окремому приладі, такому як головний блок [47] (рис. 1.4б, зліва). Головний блок (headstage) містить підсилювачі, аналого-цифрові перетворювачі (АЦП) та мультиплексори, які використовуються, відповідно, для посилення, оцифрування та комутації зареєстрованих ПП клітин.

Системи з МЕР можуть включати блок інтерфейсу переключання між різними МЕР системами (рис. 1.4б, справа), а також додаткові компоненти, такі як електронні схеми стимуляції для керованого електричного стимулювання клітин [47], системи оптичної мікроскопії [48], оптичної стимуляції [8] та мікрофлюїдні системи для введення препаратів в позаклітинний простір, їх локальну доставку або підтримку клітинного середовища [49].



а)



б)

Рис. 1.4 МЕР з 60 електродами (а), головний блок (б, зліва)
та блок інтерфейсу системи з МЕР MEA2100-Systems (б, справа)
компанії Multi Channel Systems MCS GmbH

Поєднання мікрофлюїдних систем з МЕР використовується для вивчення нейронних мереж та клітинних культур. Одна з головних переваг цієї комбінації систем – це можливість керування концентраціями препаратів у позаклітинному середовищі клітин. Впровадження тривимірних трубчастих наноструктурних електродів з отворами до мікрофлюїдних каналів, поряд з планарними електродами, дозволяє досягти високої ефективності для неінвазивної реєстрації активності клітин та для точної доставки фармацевтичних препаратів. Інтеграція систем доставки та реєстрації на одному чипі забезпечує здатність відстежувати поступові зміни в електрофізіологічній поведінці клітинних культур під впливом лікувальних препаратів. При цьому локалізована доставка через мікрофлюїдні канали в поєднанні з багатоканальною реєстрацією активності на МЕР дає можливість цілеспрямовано впливати на окремі групи клітин та аналізувати відповідь решти клітинної мережі [49].

Окрім МЕР існують багато інших конфігурацій електродів для вимірювання ПП створених під специфічні вимоги. Одним з прикладів альтернативного підходу до мікроелектродинних систем полягає в поєднанні мікрофлюїдних каналів з системою реєстрації електричної активності серцевих клітин [50]. Такий пристрій здатний швидко застосовувати різноманітні сигнали електричної стимуляції до клітинних кластерів, що знаходяться в каналі, одночасно вимірюючи їх ПП. Кластери кардіоміоцитів захоплюються поверхнею електродів

для стимуляції, а потім переміщуються потоком для послідовного аналізу. Це забезпечує високу пропускну здатність системи у порівнянні зі стандартними MER, де клітини зазвичай культивуються безпосередньо на електродах. Розроблений пристрій дозволяє характеризувати електричну активність серцевих кластерів різного складу та під впливом різних параметрів стимуляції. Такі мікрофлюїдні платформи можуть використовуватися для оцінки зрілості та функціональності кардіоміоцитів, отриманих з індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (іПСК), та оптимізації протоколів їх диференціації.

Іншим варіантом до реєстрації електричної активності 3D серцевих мікротканин є технологія мікроелектродного каналного направляча (англ. microelectrode channel guide або μ ECG), описана в роботі [51]. На відміну від традиційних MER, де електроди жорстко фіксовані на поверхні, μ ECG дозволяє гнучко позиціонувати дрітні зонди в 3D просторі полідиметилсилоксанових (ПДМС, англ. PDMS) платформ для технології «органи-на-чипі». Це забезпечує безпосередній контакт електродів з мікротканинами та можливість неінвазивного запису ПП. Технологія μ ECG може бути інтегрована з системами механічної стимуляції для створення біоміметичного мікрооточення та функціональних моделей серця для тестування кардіотоксичності та розробки ліків. Використання цієї технології для вирощування кардіоміоцитів людини з механічною стимуляцією дозволило спостерігати синхронні спонтанні скорочення, які реєструвались одночасно в багатьох точках та безперервно протягом тривалого часу.

1.7 Методи реєстрації потенціалів дії в системах з мікроелектродними решітками

Однією з головних проблем систем з MER є інтерпретація записаних сигналів. Оскільки ПП представляють сумарну електричну активність клітин, сигнали може бути важко розділити, щоб відобразити поведінку окремих клітин [52]. Це особливо актуально при вивченні гетерогенних популяцій клітин, де

активність одного типу клітин може маскувати або спотворювати внесок іншого [53]. Крім того, амплітуда ПП, записаних за допомогою планарних МЕР (мкВ), зазвичай є нижчою за амплітуду внутрішньоклітинних ПД, отриманих методом patch-clamp (мВ). Через це, для МЕР виникає необхідність у використанні більш чутливих елементів реєстрації сигналів (наприклад, електродів грибоподібної форми для кращого контакту між клітиною та електродом [54]) або розробки ефективного інформаційно-алгоритмічного забезпечення для обробки сигналів та вилучення необхідних даних.

Одне з найпростіших рішень проблеми інтерпретації ПД та ПП клітин серця – це одночасне вимірювання обох сигналів. Хоч класичні системи планарних МЕР здатні вимірювати тільки ПП, але їх активно модифікують, щоб реалізувати можливість записувати ПД окремих клітин.

Одним із методів запису внутрішньоклітинних потенціалів в МЕР є використання опто- або електропорації. Ці методи підвищують проникність мембрани, що вирівнює електричні потенціали всередині клітини та навколо електроду, тобто дає можливість вважати простір навколо електрода внутрішньоклітинним.

У випадку електропорації, клітинна мембрана збільшує проникність під дією електричного поля внаслідок дезорганізації молекул води біля її ліпідного шару. Для ефективного застосування електропорації необхідно обмежувати силу та тривалість дії електричного поля, адже занадто сильний вплив поля на мембрану може призвести до її незворотнього руйнування [55]. Для того щоб локалізувати електричне поле в межах ділянки клітини використовують різні типи електродів, які формують тісний зв'язок з мембраною: наностовбури [56], грибоподібні [57] та трубчасті наноструктури [49]. Хоч такі системи можуть записувати і ПП і ПД, але багато з них не можуть робити це одночасно, адже електрод який раніше був зовнішнім та записував ПП, після електропорації стає «внутрішньоклітинним» і починає записувати ПД. Така зміна типів реєстрованих сигналів триває певний час, але коли мембрана починає відновлюватися, то

електрод знову починає записувати ПП, тобто для постійного запису ПД необхідно періодично повторювати процес електропорації.

У випадку з оптопорацією для підвищення проникності використовується лазер, який завдяки фототермічному ефекту нагріває та розріджує ліпіди на освітленій ділянці клітинної мембрани, а електроди, які знаходяться біля неї, отримують можливість записувати внутрішньоклітинні ПД. Силу та тривалість дії лазера треба обмежувати, адже якщо лазер занадто потужний, то його вплив може призвести до постійних змін у морфології клітини та привести до її смерті [58]. Для запису сигналів після оптопорації використовують як тривимірні, так і планарні електроди, а також електроди покриті плазмонічними метаматеріалами. Системи з плазмонічними електродами дозволяють фокусувати лазер на покритті електродів та проводити оптопорацію на мембрані більш націлено [44].

Системи з МЕР, що використовують опто- та електропорацію, розроблені таким чином, щоб взаємодія з структурою клітинної мембрани була зворотньою, тож вони менш інвазивні ніж такі методи як patch-clamp, але більш інвазивні ніж класичні системи з МЕР зі звичайними планарними електродами. Поміж модифікованих МЕР також знаходять використання й інвазивні варіанти систем, які здатні записувати внутрішньоклітинні ПД за допомогою механічної перфорації мембрани. Тривимірні електроди таких МЕР можуть вигляд ультра-гострих нанодротів, здатних протинати мембрану, [59] або мати вулканоподібну форму, яка дозволяє захоплювати клітину та «під'єднувати» її внутрішньоклітинне середовище до мікроелектроду всередині «вулкану» [60]. Таким чином, метод з вулканоподібним електродом дозволяє одночасно записувати і ПД клітини, і її ПП, за допомогою планарного електроду ззовні «вулкану». Крім того, незважаючи на інвазивність, він може використовуватися для довгострокових записів [10], що робить його гідним конкурентом системам з опто- та електропорацією.

Математична реконструкція ПД з ПП є потужним інструментом для неінвазивного дослідження електричної активності серцевих клітин. Вона

дозволяє розрізняти сигнали ПД, що надходять від різних клітин у системах з МЕР з високою просторовою роздільною здатністю. ПД різних клітин можуть відрізнятися за формою, тривалістю, амплітудою та іншими характеристиками. Відокремлюючи сигнали ПД на основі цих просторових і часових особливостей, дослідники можуть ідентифікувати та аналізувати внески конкретних типів клітин або сегментів тканин у записану електричну активність. Це розрізнення полегшує вивчення клітинної гетерогенності, впливу препаратів на електричні сигнали клітин, функціонального зв'язку в серцевих тканинах та поширення електричної активності, що важливо для розуміння механізмів серцевих аритмій. Крім того, математична реконструкція ПД з ПП дозволяє проводити довготривалі вимірювання та вивчати зв'язок між електричною та механічною активністю серцевої тканини. РПД також можна використовувати для валідації та вдосконалення математичних моделей серцевих клітин. Загалом, математична реконструкція ПД з ПП відкриває широкі можливості для поглибленого дослідження електрофізіології серця та розробки нових терапевтичних підходів.

1.8 Інформаційно-алгоритмічне забезпечення систем з мікроелектродними решітками

Особливість математичної реконструкції ПД полягає в тому, що вона є програмним рішенням і частиною інформаційно-алгоритмічного забезпечення систем з МЕР. На відміну від технологічних рішень, які часто вимагають модифікації апаратної частини, програмне забезпечення для реконструкції ПД має низку переваг. По-перше, воно є гнучким і може бути легко адаптоване до конкретних потреб дослідження. По-друге, програмні рішення здатні ефективно обробляти великі обсяги даних, що особливо важливо при роботі з системами, які мають високу просторову роздільну здатність, довготривалі записи та апаратну паралелізацію. По-третє, з економічної точки зору, розробка та впровадження програмних рішень зазвичай є більш ефективними порівняно з апаратними модифікаціями. Крім того, програмне забезпечення для реконструкції ПД можна інтегрувати з іншими інструментами аналізу та

візуалізації даних, що дозволяє створювати комплексні робочі процеси.

Інформаційно-алгоритмічне забезпечення систем з МЕР включає в себе програмні рішення для збору, аналізу та візуалізації даних, отриманих з мікроелектродних решіток. Розглянемо детальніше ключові функції такого програмного забезпечення на прикладі продуктів компанії Multi Channel Systems MCS GmbH.

Однією з основних задач інформаційно-алгоритмічного забезпечення є збір даних у реальному часі. Програмні інструменти, такі як Multi Channel Experimenter, дозволяють записувати потенціали поля з усіх каналів МЕР, керувати процесом запису та детектування піків збудження. Важливою перевагою є гнучкість налаштувань експерименту та можливість роботи з різними джерелами даних, що дозволяє адаптувати систему до конкретних потреб дослідження.

Не менш важливою функцією є аналіз даних, який може виконуватись як у реальному часі, так і після завершення експерименту. Програмне забезпечення, таке як Cardio2D та Multi Channel Analyzer, надає інструменти для дослідження патернів збудження, порівняння розповсюдження сигналів між каналами, розрахунку швидкості та затримок проведення імпульсу. Це дозволяє детально вивчати просторово-часові характеристики електричної активності серцевих клітин та тканин.

Для ефективної інтерпретації результатів важливу роль відіграє візуалізація даних. Програмне забезпечення для систем з МЕР повинно забезпечувати побудову графічних рисунків ПП в часі та на решітці електродів. Функції масштабування та навігації по даним на основі подій, реалізовані, наприклад, в Multi Channel Analyzer, дозволяють зручно досліджувати як загальну картину активності, так і її окремі деталі.

З точки зору інтеграції з існуючими методами обробки даних, важливою функцією інформаційно-алгоритмічного забезпечення є експорт даних у поширені формати, такі як HDF5, .nex, .ced тощо. Інструменти, подібні до Multi

Channel DataManager, дозволяють конвертувати записи у формати, сумісні з популярними середовищами аналізу даних, такими як Matlab, Python, Neuroexplorer тощо.

Перевагою програмних рішень для систем з МЕР є їх гнучкість та розширюваність; при необхідності, базове інформаційно-алгоритмічне забезпечення може бути адаптоване та доповнене додатковими модулями чи алгоритмами, специфічними для конкретного дослідження. Це дозволяє створювати комплексні робочі процеси, які поєднують в собі як стандартні методи аналізу, так і інноваційні підходи до обробки даних. Зокрема, інтеграція алгоритмів машинного навчання та штучного інтелекту (ШІ) може забезпечити автоматизоване розпізнавання образів і класифікацію електричних сигналів серцевих тканин. У майбутніх розробках програмного забезпечення можна використовувати методи штучного інтелекту для обробки сигналів, покращення виявлення зубців та подій, аналізу періодів ШІ, підвищення точності аналізу сигналу та класифікації ШІ за впливом типу та концентрації препарату. Такі методи аналізу даних можуть значно розширити можливості систем з МЕР та відкрити нові перспективи в дослідженні електрофізіології серця.

Таким чином, інформаційно-алгоритмічне забезпечення є невід'ємною частиною сучасних систем з МЕР. Воно надає дослідникам потужні та гнучкі інструменти для ефективної роботи з даними на всіх етапах – від запису до аналізу та інтерпретації результатів. Завдяки своїй адаптивності та розширюваності, програмні рішення дозволяють адаптувати системи з МЕР до широкого спектру задач в області дослідження електрофізіології серця та інших біологічних тканин.

Висновки до розділу 1

На основі проведеного огляду наукових джерел з електрофізіології серцевих клітин було встановлено:

1. Метод patch-clamp є золотим стандартом для дослідження впливу

препаратів на клітини завдяки своїй можливості безпосереднього аналізу електрофізіологічних характеристик ПД. Цей метод є особливо цінним для детального вивчення фаз ПД та іонних струмів. Однак, застосування patch-clamp стає проблематичним при тривалих експериментах або коли потрібна висока пропускна здатність системи.

2. Системи з МЕР, хоч і простіші у використанні, але здатні реєструвати лише ПП. Сучасні технології, розроблені для компенсації цих обмежень, не позбавлені недоліків: у разі оптичних методів можлива фототоксичність, а електричні методи підвищують ризик пошкодження клітинної мембрани.

3. Використання математичної реконструкції ПД з ПП відзначається відсутністю деструктивного впливу на клітини, який є характерним для технології patch-clamp та електродних і оптичних модифікацій систем з МЕР. Розробка такого підходу може служити безпечною альтернативою для систем з МЕР, дозволяючи отримувати інформацію про ПД без фізичного втручання в клітинну структуру. Такий підхід може сприяти більш точній оцінці ризику кардіотоксичності, зокрема через можливість детального аналізу електрофізіологічних характеристик РПД клітин.

РОЗДІЛ 2

МАТЕМАТИЧНІ МОДЕЛІ ПОТЕНЦІАЛІВ ДІЇ ТА ПОЗАКЛІТИННИХ ПОТЕНЦІАЛІВ КЛІТИН СЕРЦЯ

2.1 Моделі електричної активності серцевих клітин

Зв'язок між ПД та ПП є результатом складних біофізичних взаємодій через іонні канали, клітинну мембрану та позаклітинний простір. Математичні моделі, такі як рівняння Ходжкіна-Хакслі та їх модифікації, використовуються для симуляції динаміки ПД та служать основою для розуміння перетворення внутрішньоклітинних подій на позаклітинні явища [61].

Детальне вивчення біофізичних процесів, регулюючих взаємодії між ПД та ПП, виявляє роль іонів у визначенні електричної активності клітин. Іонні канали, що присутні в клітинній мембрані, регулюють перехід іонів через неї, забезпечуючи формування ПД [61].

У дослідженнях кардіотоксичності *in vitro* для оцінки впливу лікарських препаратів та інших речовин на серцеві функції використовують різні типи клітин серця. До них відносяться кардіоміоцити шлуночків, передсердь, клітини волокон Пуркінє, клітини АВВ та САВ. Кожен з цих типів клітин має унікальні електрофізіологічні властивості та функції в серці, що робить їх придатними для вирішення конкретних дослідницьких завдань.

Для симуляції електрофізіологічних процесів різних типів клітин серця було розроблено багато математичних моделей. Ці моделі враховують унікальну структуру іонних каналів, мембранних потенціалів та інших клітинних властивостей, характерних для певного типу клітин. Наприклад, моделі кардіоміоцитів шлуночків мають більшу кількість іонних каналів, таких як швидкий натрієвий (Na^+) канал, кальцієвий (Ca^{2+}) канал L-типу та різні калієві (K^+) канали, такі як K^+ -канали внутрішнього випрямлення та сповільненого випрямлення. З іншого боку, моделі клітин передсердь часто включають додаткові іонні канали, такі як надшвидкий K^+ -канал сповільненого випрямлення (I_{Kur}) і K^+ -канал, активований ацетилхоліном (I_{KACh}), які зазвичай відсутні в

шлуночкових клітинах. Ці специфічні іонні канали створюють унікальні морфології ПД, що спостерігаються в клітинах передсердь, які, як правило, коротші за тривалістю порівняно з такими в клітинах шлуночків [62].

Використання клітин САВ має кілька переваг над іншими типами клітин серця. По-перше, клітини САВ слугують природним кардіостимулятором серця, ініціюючи серцевий ПД. Тому вони особливо корисні для вивчення аритмогенних ефектів речовин з метою оцінки того, як ліки можуть впливати на ритм серця. По-друге, склад іонних каналів клітин САВ відрізняється від складу іонних каналів інших клітин серця, таких як кардіоміоцити шлуночків або передсердь. Цей унікальний профіль іонних каналів дозволяє краще зрозуміти, як ліки взаємодіють з різними іонними каналами, впливаючи таким чином на електрофізіологічні процеси серцевих клітин. Моделі клітин САВ призначені для того, щоб відобразити здатність цих клітин спонтанно скорочуватись та бути водіями ритму. Ці моделі часто включають іонні канали, такі як HCN (англ. Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels; канали, що активуються гіперполяризацією та модулюються циклічними нукліотидами), які мають вирішальне значення для серцевої діяльності. Склад іонних каналів і, як наслідок, морфологія ПД в клітинах САВ є унікальними, і моделі створюють з метою відтворити ці унікальні характеристики [62].

Деякі інші клітини серця теж здатні бути водіями ритму, але на відміну від синоатріальних, клітини волокон Пуркін'є більше спеціалізуються на швидкій провідності, а клітини АВВ відіграють досить обмежену роль в ініціюванні серцевих ПД, але важливі для проведення сигналу між передсерддями та шлуночками. Клітини шлуночків і передсердь в основному беруть участь у скороченні та поширенні ПД [63].

Моделі клітин волокон Пуркін'є, які відомі своїми властивостями швидкої провідності, фокусуються на натрієвих і калієвих струмах, а моделі АВВ включають Ca^{2+} канали Т-типу, які відповідають за характерну цим клітинам повільну деполяризацію та здатність до спонтанного скорочення за умов

відсутності ритму синоатріальних клітин [64].

Хоча клітини волокон Пуркінє, АВВ, кардіоміоцити шлуночків та передсердь є цінними для вивчення конкретних аспектів серцевої функції, таких як скоротливість або провідність сигналу, вони не можуть дати повного уявлення про те, як певний препарат впливає на пейсмейкерну активність серця та виникнення аритмій. Натомість, унікальні електрофізіологічні характеристики клітин САВ, як природного водія ритму, роблять їх особливо корисними для дослідження впливу різних речовин на автоматизм серцевої діяльності та функцію іонних каналів, що лежить в основі цього автоматизму.

2.2 Розвиток моделей серцевих клітин

Еволюція моделей серцевих клітин починається з роботи Алана Ходжкіна та Ендрю Хакслі, які в 1952 році розробили набір нелінійних диференціальних рівнянь для опису іонних механізмів, що лежать в основі генерації та поширення ПД в гігантському аксоні кальмара. Ця модель, відома як модель Ходжкіна-Хакслі, послужила фундаментальною основою для розуміння електричних характеристик збудливих клітин, включаючи нейрони і м'язові клітини. Її робило новаторською те, що вона включала потенціал-керовані іонні канали та канали витоку, а також електрохімічні градієнти для пояснення складної динаміки ПД [65].

Спираючись на цей фундамент, Деніс Нобл у 1962 році представив першу математичну модель серцевих ПД та водіїв ритму, відому як модель Нобла. Ця модель була значним досягненням, оскільки вона базувалася на експериментальних записах іонних струмів і адаптувала рівняння Ходжкіна-Хакслі для клітин серця. Модель Нобла була особливо інноваційною завдяки своїй здатності передбачати наявність додаткових іонних струмів, які пізніше були виявлені експериментально. Вона також дозволила зрозуміти, як САВ, основний генератор ритму серця ссавців, може генерувати ритм, не маючи явного осцилятора [66].

Протягом багатьох років модель Нобла слугувала основою для розробки сотень інших моделей [64], що представляли клітини серцевого м'яза з усе більшою деталізацією, тим самим сприяючи кращому розумінню електрофізіології серця та таких явищ як кардіотоксичність. З поглибленням наукового розуміння серцевих клітин, ставало все більш очевидним те, що ПД серця регулюється складною взаємодією іонних каналів та транспортерів. Це усвідомлення призвело до розробки більш складних моделей, таких як модель Білера-Рейтера в 1977 році, яка включала додаткові змінні для врахування динаміки кальцію [67].

На початку 1990-х років з'явилася модель Луо-Руді, яка включала 20 змінних для моделювання не лише ПД, але й внутрішньоклітинних механізмів витоку іонів кальцію [68]. Ця модель ознаменувала значний прогрес у цій галузі, пропонуючи більш повне представлення електрофізіології серцевої клітини. Складність моделей серцевих клітин продовжувала зростати і в 21 столітті. Такі відомі моделі, як модель Тена Тушера-Панфілова у 2003 році, включали ще більше змінних, щоб врахувати просторову неоднорідність серцевої тканини [69]. Остання модель О'Хари-Віраг-Варро-Руді 2011 року налічує понад 40 змінних [70], забезпечуючи надзвичайно детальне представлення електрофізіології серцевих клітин, включаючи ефекти різних мутацій іонних каналів та взаємодію з лікарськими препаратами.

Однак хоч зростання складності цих моделей і збільшує точність симуляцій, воно також призводить до ускладнення обчислень за рахунок збільшення диференціальних рівнянь. Включення більшої кількості змінних вимагає використання більш складних чисельних методів і збільшення обчислювальних ресурсів. Особливо це стосується симуляцій, які враховують тривимірну архітектуру серцевої тканини. Крім того, складність цих моделей вимагає суворої валідації з експериментальними даними, щоб забезпечити як обчислювальну надійність, так і фізіологічну відповідність.

На противагу домінуючій тенденції до ускладнення моделей серцевих

клітин, феноменологічна модель Фентона-Карми, представлена в 1998 році, застосувала інший підхід, спростивши іонну модель [71]. У той час як більшість моделей намагалися включити все більшу кількість змінних, щоб врахувати складні деталі електрофізіології серця, Фентон і Карма розробили модель лише з трьома мембранними струмами. Їхньою метою було відтворити властивості електричної реституції та поведінку спіральних хвиль, що спостерігаються в більш складних іонних моделях (таких як модель Білера-Рейтера) у своїй спрощеній моделі. Фентон і Карма продемонстрували, що можна змодельовати динаміку серцевих ПД і поширення хвиль, не вдаючись до високого рівня складності та не втрачаючи ключових фізіологічних властивостей. Таким чином модель Фентона-Карми представила альтернативний шлях в еволюції моделей серцевих клітин.

2.3 Спрощена модель паралельних провідностей для симуляції потенціалів дії клітин синоатріального вузла людини

2.3.1 Обґрунтування розробки моделі

Для моделювання великих популяцій клітин у системах з мікроелектродними решітками варто шукати баланс між обчислювальною ефективністю та біологічною точністю. Мікроелектродні решітки реєструють ПП з культури клітин або тканини, і метою часто є розуміння не лише поведінки окремих клітин, але й їхньої взаємодії та колективної динаміки.

Феноменологічні моделі, які є менш детальними, але обчислювально менш вимогливими, можуть бути придатними для великомасштабних симуляцій за участі багатьох клітин. Ці моделі відображають основні риси клітинної поведінки, не заглиблюючись у складні деталі динаміки іонних каналів. Наприклад, у системах з мікроелектродними решітками можна використовувати спрощені моделі, такі як модель Фітц Х'ю-Нагумо або модель Фентона-Карма, для моделювання загальної поведінки клітин серця. Ці моделі особливо корисні для вивчення таких явищ, як поширення хвиль і синхронізація серед популяції

клітин [72, 73].

Але для моделювання клітин в системах з мікроелектродними решітками важлива не тільки простота моделі, але і тип клітин, ПД яких моделюється. Моделі ПД різних типів клітин використовують для вирішення конкретних задач, пов'язаних з дослідженням функцій клітин у серці. З точки зору електрофізіологічних властивостей, клітини, які можуть генерувати ПД самостійно, такі як клітини САВ, мають перевагу в тому, що вони імітують природну кардіостимуляційну активність серця. Це особливо корисно для досліджень, які мають на меті зрозуміти вплив речовин на частоту серцевих скорочень або ритм. З іншого боку, звичайні скоротливі клітини, такі як кардіоміоцити шлуночків або передсердь, є більш актуальними для вивчення впливу на скоротливість та морфологію ПД.

Моделі Фентона-Карми і Фітц Х'ю-Нагумо в першу чергу призначені для моделювання клітин шлуночків і не відображають спонтанної генерації ПД, характерної для клітин САВ. Модель Фентона-Карми зосереджена на моделюванні електрофізіологічної поведінки шлуночкової тканини, зокрема поширення хвиль і динаміки спіральних хвиль. Вона не включає такі механізми, як пейсмейкерний або «смішний» струм (I_f), що сприяють автоматизму клітин САВ. Аналогічно, модель Фітц Х'ю-Нагумо є спрощеною моделлю, яка відображає основні риси збудливих систем, але не включає специфічні іонні канали та механізми, які призводять до автоматизму пейсмейкерних клітин. Вона часто використовується для вивчення таких явищ, як поширення хвиль і збудливість, але не пристосована для моделювання унікальних властивостей синоатріальних клітин [64].

Для моделювання популяції клітин в мікроелектродних решітках, яка включає клітини з пейсмейкерними властивостями, більш доречною була б модель, яка може врахувати здатність самозбудження цих клітин. Старі моделі ПД клітин САВ є досить простими, але вони не враховують нових досліджень та відкриттів з електрофізіології клітин. Компромісом в цій проблемі є застосування

феноменологічного підходу з моделювання до більш новітньої моделі клітин САВ як модель Фабрі-Фантіні-Вайлдерс-Севері (2017) [74].

2.3.2 Вдосконалення моделі паралельних провідностей

За основу представленої в [13] феноменологічної моделі ПД клітин САВ було взято модель паралельних провідностей з [75]. Модель паралельних провідностей слугує математичною основою для моделювання електричної поведінки клітин серця. У цій моделі клітинна мембрана розглядається як електрична схема, що складається з різних іонних каналів, насосів і обмінників, кожен з яких представлений певною провідністю та джерелом напруги. Ці провідності вважаються паралельними між собою і з ємністю мембрани. Модель дозволяє розрахувати мембранний потенціал шляхом розв'язання системи диференціальних рівнянь, які описують потік іонів через ці провідності.

Мембранний потенціал V_m , визначається струмами, що протікають через мембрану клітини. Швидкість зміни мембранного потенціалу з часом описується рівнянням [61]:

$$\frac{dV_m}{dt} = \frac{1}{C_m} (I_{ext} - \sum_i I_i),$$

де C_m — ємність мембрани, I_{ext} — будь-який зовнішній струм, а I_i — трансмембранний струм.

Зовнішній струм I_{ext} використовують для електричної стимуляції клітини, щоб, наприклад, викликати деполяризацію ПД. У моделі з синоатріальними клітинами зовнішній струм для деполяризації не потрібен, адже клітини здатні генерувати ПД самостійно, тому $I_{ext} = 0$, а рівняння похідної мембранного потенціалу перетворюється в:

$$\frac{dV_m}{dt} = -\frac{1}{C_m} \sum_i I_i.$$

В моделі паралельних провідностей струми каналів відіграють ключову

роль у визначенні загальної електричної поведінки клітини. Кожен іонний канал в моделі характеризується власною провідністю g_i і потенціал Нернста E_i , а струм I_i для кожного каналу розраховується за законом Ома як $I_i = g_i(V_m - E_i)$. Загальний мембранний струм є різницею індивідуальних струмів I_i та зовнішнього струму I_{ext} . Провідність – це міра того, наскільки легко іони можуть протікати через певний канал, яка зазвичай виражається у Сіменсах (См). Потенціал Нернста – це мембранний потенціал, при якому потік іонів через канал дорівнює нулю, і зазвичай вимірюється в мілівольтах (мВ).

Різні типи іонних каналів, такі як натрієві (Na^+), калієві (K^+) та кальцієві (Ca^{2+}) канали, роблять свій внесок у загальний іонний струм. Кожен з цих каналів має свій потенціал Нернста E та провідність g . Провідність каналу не є статичною величиною; вона може динамічно змінюватися у відповідь на різні стимули. Для потенціал-керованих каналів провідність описується набором диференціальних рівнянь, які враховують відкриття і закриття каналу у відповідь на зміну мембранного потенціалу. Ці рівняння зазвичай виводяться з експериментальних даних і можуть бути досить складними, включаючи декілька станів каналу. Наприклад, модель Ходжкіна-Хакслі описує натрієву та калієву провідність трьома змінними (m , h , n), які підпорядковуються диференціальним рівнянням першого порядку.

Модель [13], що була розроблена в цій роботі, успадкувала свої узагальнені функції з [75], тому стаціонарні функції визначаються не через константи швидкості, як в оригінальній моделі Ходжкіна-Хакслі, а безпосередньо через узагальнену формулу:

$$x_{\infty} = (1 + \exp(\frac{V_{hx} - V_m}{V_{sx}}))^{-1},$$

де V_{hx} – напруга напівактивації; V_{sx} – крутизна кривої.

На відміну від інших моделей, де постійна часу τ визначається через кусково-нелінійні функції, в цій роботі для збереження простоти моделі використано узагальнену функцію:

$$\tau_x = \tau_{x, \max} (e_{x1} + 1 / e_{x2} - e_{x1} / e_{x2})^{-1},$$

$$\text{де } e_{x1} = \exp\left(\frac{V_{m\tau x} - V_m}{V_{s\tau x} V_{r\tau x}}\right), \quad e_{x2} = \exp\left(\frac{V_{m\tau x} - V_m}{V_{s\tau x} V_{r\tau x}^{-1}}\right).$$

Ця функція дозволяє представити τ_x у вигляді дзвоноподібної кривої з максимумом при напрузі $V_{m\tau x}$ і сторонами, що переходять в 0, та з параметром крутизни $V_{s\tau x}$ і параметром співвідношення сторін $V_{r\tau x}$, який визначає співвідношення крутизни лівої і правої сторони дзвоноподібної кривої (рис. 2.1).

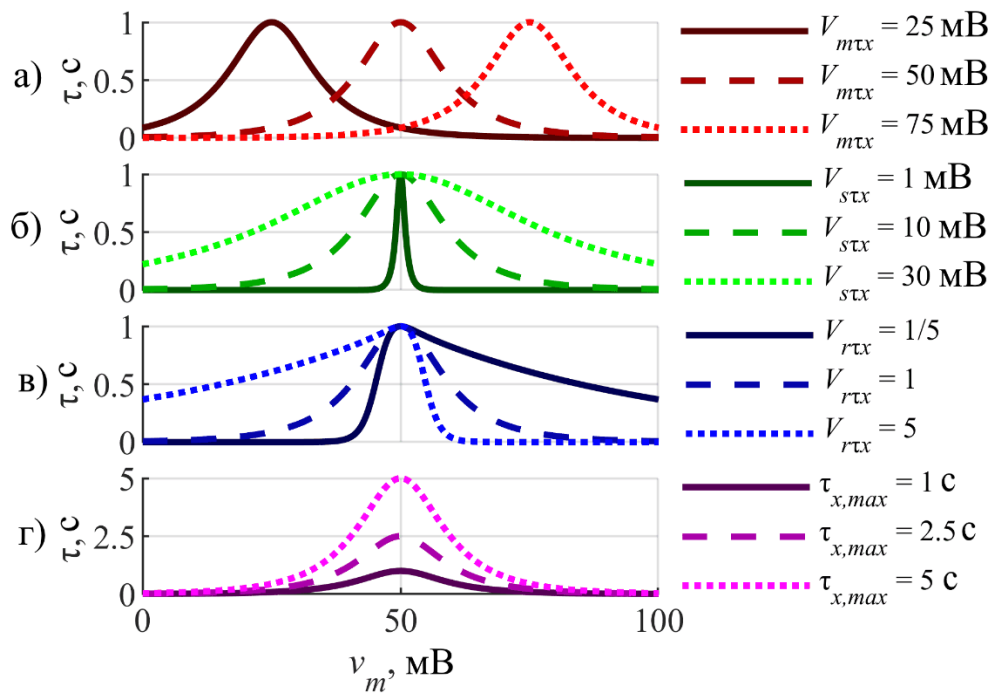


Рис. 2.1 Зміна сталої часу τ_x функції з різними аргументами (початкові аргументи $V_{m\tau x} = 50$ мВ, $V_{s\tau x} = 1$, $V_{r\tau x} = 1$, $\tau_{x, \max} = 1$ с):

- а) $V_{m\tau x}$ зміщує максимум функції за віссю абсцис;
- б) $V_{s\tau x}$ змінює крутизну дзвоноподібної кривої;
- в) $V_{r\tau x} > 1$ зменшує крутизну лівої частини дзвоноподібної кривої, але збільшує крутизну правої частини, та навпаки;
- г) $\tau_{x, \max}$ масштабує функцію

Якщо функція активації τ_x не має піку, то функцію для τ_x можна замінити логістичною функцією, яка використовується для функції стаціонарного стану:

$$\tau_x = \tau_{x,\max} (1 + \exp(\frac{V_{h\tau x} - V_m}{V_{s\tau x}}))^{-1},$$

де $V_{h\tau x}$ – напруга напівактивації.

2.3.3 Узагальнення струмів моделі

ПД синоатріальної клітини проходить три окремі фази, а саме повільну деполяризацію, швидку деполяризацію та реполяризацію. Повільна деполяризація викликається вхідним іонним струмом, тоді як вихідний іонний струм викликає реполяризацію. Ці струми, включаючи струм швидкої деполяризації, складаються з окремих залежних від напруги струмів.

В сучасних моделях САВ [74, 76] струми зазвичай класифікують як пов'язані з іонами кальцію (Ca^{2+}), калію (K^+) або натрію (Na^+). Це дозволяє розглядати загальний струм I_{tot} через мембрану як суму трьох загальних струмів:

$$I_{tot} = I_{tot,K} + I_{tot,Na} + I_{tot,Ca},$$

де $I_{tot,Ca}$, $I_{tot,K}$ та $I_{tot,Na}$ – загальні струми Ca^{2+} , K^+ та Na^+ , відповідно.

Автори [76] згрупували сумарні струми в своїй моделі ПД клітин САВ людини як:

$$I_{tot,K} = I_{to} + I_{sus} + I_{Kur} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{bK} + I_{fK} - 2I_{NaK},$$

де I_{to} – перехідний зовнішній K^+ струм; I_{sus} – стійкий зовнішній K^+ струм; I_{Kur} – надшвидкий випрямляючий K^+ струм; I_{Kr} – швидкий випрямляючий K^+ струм; I_{Ks} – повільний випрямляючий K^+ струм; I_{bK} – фоновий K^+ струм; I_{fK} – K^+ компонент пейсмерного струму; I_{NaK} – Na^+ - K^+ насосний струм.

$$I_{tot,Na} = I_{Na} + 3I_{NaK} + I_{NaCa} + I_{bNa} + I_{fNa},$$

де I_{Na} – швидкий Na^+ струм; I_{NaCa} – Na^+ - Ca^{2+} обмінний струм; I_{bNa} – Na^+ фоновий струм; I_{fNa} – Na^+ складова пейсмерного струму.

$$I_{tot,Ca} = I_{CaL} + I_{CaT} + I_{pCa} + I_{bCa} - 2I_{NaCa},$$

де I_{CaL} – Ca^{2+} струм L-типу; I_{CaT} – Ca^{2+} струм T-типу; I_{pCa} – струм сарколемальної

Ca^{+} помпи; I_{bCa} – Ca^{+} фоновий струм.

Коли три сумарні струми, пов'язані з іонами кальцію, калію і натрію, точно змодельовані, то отриманий ПД має морфологію, що відповідає реальному ПД клітини САВ. У цьому дослідженні використовується модель [74] для характеристики цих сумарних струмів і їх симуляції за допомогою моделі паралельних провідностей з [75]. Ця методологія зберігає обчислювальну ефективність і простоту, притаманну моделі Ходжкіна-Хакслі, і водночас дозволяє моделювати ПД клітин САВ, який демонструє морфологічні характеристики, подібні до тих, що зустрічаються в більш сучасних моделях.

У моделі з [60] відсутні струми I_{bK} , I_{bNa} , I_{bCa} , I_{sus} та I_{pCa} з [76]. Таким чином, сумарні струми для моделі з [74] формулюються по-іншому:

$$I_{tot,K} = I_{to} + I_{Kur} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{fK} - 2I_{NaK},$$

$$I_{tot,Na} = I_{Na} + 3I_{NaK} + 3I_{NaCa} + I_{fNa},$$

$$I_{tot,Ca} = I_{CaL} + I_{CaT} - 2I_{NaCa}.$$

У клітинах серця рух іонів відбувається або через іонні канали, або через іонні транспортери. У моделі, запропонованій у цьому дослідженні, струми, пов'язані з іонними транспортерами, відрізняються від струмів, пов'язаних з іонними каналами. Це розмежування призводить до набору з п'яти рівнянь: одне з них представляє загальний струм, а чотири інші відповідають струмам K^{+} , Na^{+} , Ca^{2+} та струму іонних транспортерів.

$$I_{tot,Na} = I_{Na} + I_{fNa},$$

$$I_{tot,Ca} = I_{CaL} + I_{CaT},$$

$$I_{tot,tsp} = I_{NaK} + I_{NaCa},$$

$$I_{tot} = I_{tot,K} + I_{tot,Na} + I_{tot,Ca} + I_{tot,tsp}.$$

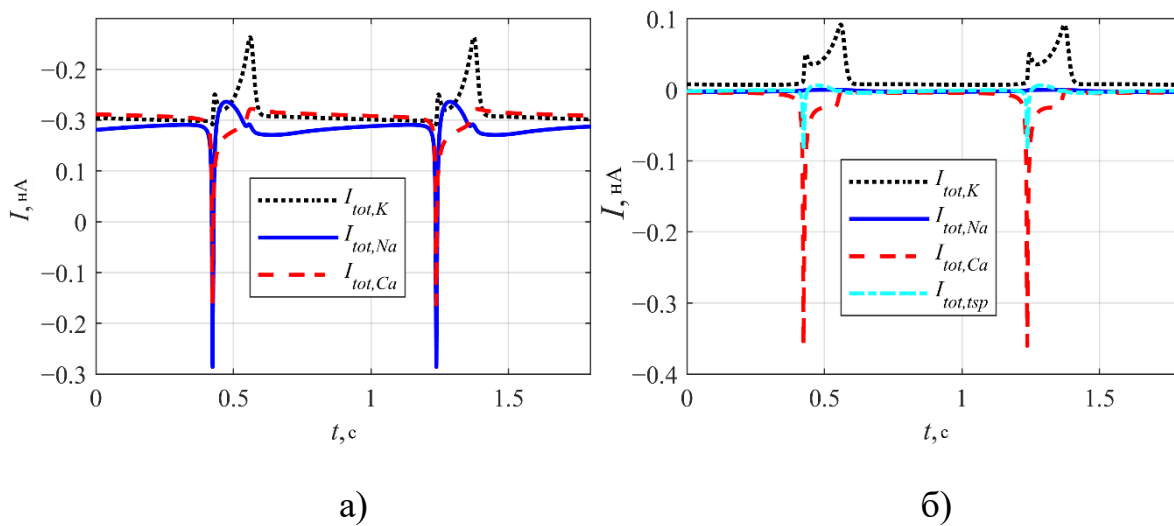


Рис. 2.2 Загальні струми $I_{tot,K}$, $I_{tot,Na}$ та $I_{tot,Ca}$ без компоненти струму транспортерів $I_{tot,tsp}$ (а) та загальні струми $I_{tot,K}$, $I_{tot,Na}$, $I_{tot,Ca}$ та $I_{tot,tsp}$ (б)

Результати моделювання, представлені на рис. 2.2, показують, що введення окремої компоненти для пов'язаних з струмом транспортерів $I_{tot,tsp}$ суттєво зменшує внесок $I_{tot,Na}$.

2.3.4 Результати та порівняння моделі

Симуляція моделі була проведена в MATLAB з використанням функції `ode15s` з відносною похибкою, встановленою на рівні 10^{-6} . Незалежні струми по-різному впливають на загальний струм (рис. 2.2), тому для апроксимації загального струму було визначено домінуючі струми I_{Kr} , I_{CaL} та I_{fNa} . Їхні постійні часу та функції стаціонарного стану з [74] були використані як початкове наближення для моделювання повних струмів. Далі параметри було підлаштовано, щоб симульований ПД відповідав потенціалу з еталонної моделі синоатріального ПД [74] (рис. 2.3); в табл. 2.1 наведено параметри тривалості циклу (CL), максимального діастолічного потенціалу (MDP) та амплітуди ПД (APA) між розробленою моделлю та іншими. CL = 897 мс відповідає частоті проведення 66 ПД на хвилину (ПД/хв). Початкові параметри детально описані в табл. 2.2, тоді як параметри функцій активації та інактивації описані в табл. 2.3, а решта параметрів моделі наведено в табл. 2.4.

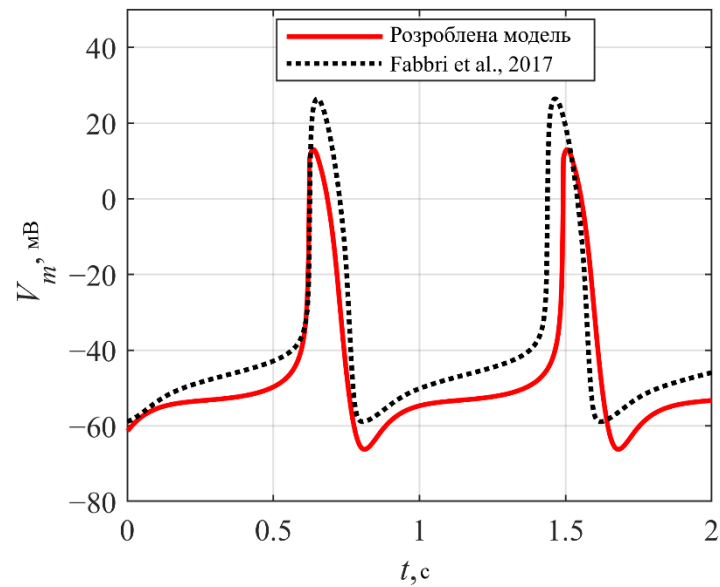


Рис. 2.3 Порівняння симульованих ПД клітин САВ людини з розробленої моделі та моделі [74]

Таблиця 2.1 Порівняння параметрів деталізованих та розробленої моделі

Параметри ПД	Виміряне значення [77]	Pohl et al., 2016 [78]	Fabbri et al., 2017 [74]	Розроблена модель
CL, ms	828 ± 15	836	814	897
MDP, mV	-62 ± 4	-60	-58.9	-66
APA, mV	78	76	85.3	79

Таблиця 2.2 Початкові параметри розробленої моделі

V_0 , мВ	n_0	m_0	h_0	d_0	f_0
-64.61	0.7256	0.2107	0.1227	0.002136	0.02337

Таблиця 2.3 Параметри функцій активації та інактивації розробленої моделі

Параметр	Функції активації та інактивації				
	n	m	h	d	f
V_h , мВ	-59.36	0	-64	-9.285	-85.67
V_s , мВ	18.65	25.33	-3	9	-20.42
$V_{m\tau}$, мВ	-27.65	50	-57	52.44	-0.939
$V_{s\tau}$, мВ	15	820	9.4868	16.98	7.746
$V_{r\tau}$	1	1	3.1623	24.72	7.746
τ_{max} , с	0.6821	0.4188	0.0696	0.0023	2

Таблиця 2.4 Параметри моделі розробленої моделі

Параметр	Значення	Параметр	Значення	Параметр	Значення
C_m , пФ	57	E_K , мВ	-97.7	$G_{K,max}$, нСм	0.154
		E_{Na} , мВ	70.53	$G_{Na,max}$, нСм	23
V_{MDP} , мВ	-65.65	E_{Ca} , мВ	132.3	$G_{Ca,max}$, нСм	0.5
		E_{tsp} , мВ	0	G_{tsp} , нСм	0.012

На рис. 2.3 показано морфологію модельного та еталонного ПД. Різниця між сигналами може бути пов'язана зі струмом іонних транспортерів. Значення його провідності було встановлено на порядок нижче порівняно з іншими провідностями, що може пояснити меншу амплітуду ПД. Важливо зазначити, що параметри з табл. 3 не є експериментально вимірними струмами, вони були підібрані так, щоб відповідати загальним струмам з [74]. Деякі постійні часу τ з [74] мають складні функції, які погано узгоджуються з узагальненими формулами τ для цієї моделі, що може також негативно впливати на відтворюваність морфології ПД деталізованої моделі.

2. 4 Моделювання позаклітинного потенціалу на основі потенціалу дії

Враховуючи, що розмір клітини значно менший за відстань до точки спостереження, клітину можна вважати монопольним джерелом струму, розташованим в середовищі з провідністю σ . Завдяки однорідності цього середовища, струм джерела I розподіляється у просторі рівномірно [11]. Таким чином, густина струму \vec{J} на сфері з радіусом r , центр якої знаходиться в місці розташування монопольного джерела струму, буде дорівнювати:

$$\vec{J} = \frac{I}{S} \vec{e}_r = \frac{I}{4\pi r^2} \vec{e}_r \quad (2.1)$$

де S — площа сфери, \vec{e}_r — вектор нормалі до поверхні сфери.

За законом Ома, густина струму \vec{J} пов'язана з напруженістю електричного поля \vec{E} в точці на поверхні сфери:

$$\vec{j} = \sigma \vec{E},$$

де σ — провідність позаклітинного середовища. Враховуючи, що $\vec{E} = -\nabla\phi$, де ϕ — потенціал електричного поля у точці спостереження, маємо:

$$\vec{j} = -\vec{e}_r \sigma \frac{\partial \phi}{\partial r}. \quad (2.2)$$

Відповідно до моделі паралельних провідностей, струм, який протікає крізь клітинну мембрану, має вираз:

$$I = -C_m \frac{dV_m}{dt}, \quad (2.3)$$

де I — сумарний струм, що тече через мембрану, C_m — ємність клітинної мембрани, V_m — мембранний потенціал.

Оскільки потенціал залежить лише від відстані точки спостереження до клітини, то поєднавши рівняння (2.1), (2.2) і (2.3), отримаємо:

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = 4\pi r^2 \sigma \frac{d\phi}{dr}. \quad (2.4)$$

Інтегруючи (2.4) видно, що на нескінченній відстані від джерела струму ПП наближається до нуля, тож отримаємо рівняння ПП на основі монопольного джерела струму:

$$\begin{aligned} \int_{\phi_1}^{\phi_2} d\phi &= \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_m}{dt} \int_{r_1}^{r_2} \frac{dr}{r^2} \rightarrow \\ \int_{\phi_1}^0 d\phi &= \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_m}{dt} \int_{r_1}^{\infty} \frac{dr}{r^2} \rightarrow \\ (0 - \phi_1) &= \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_m}{dt} \left(-\frac{1}{\infty} + \frac{1}{r_1} \right) \rightarrow \\ -\phi_1 &= \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_m}{dt} \frac{1}{r_1} \rightarrow \\ \phi &= -\frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_m}{dt} \frac{1}{r}. \end{aligned} \quad (2.5)$$

Використання рівняння потенціалу монопольного джерела струму (2.5)

разом з рівнянням моделі паралельних провідностей (2.3) дозволяє моделювати ПП на основі симульованого ПД клітин САВ. Такий підхід є бідомним, адже він використовує рівняння монопольного джерела на основі схемотехнічної моделі клітинної мембрани.

Висновки до розділу 2

Враховуючи огляд математичних моделей ПД та підходів до отримання ПП можна визначити наступне:

1. В сучасних моделях клітин намагаються враховувати всі досліджені іонні канали, транспортери та динаміку іонних концентрацій. Це дозволяє отримати реалістичні симуляції ПД та біоелектричних процесів за рахунок високої складності моделі у вигляді великої кількості диференціальних рівнянь та модельних параметрів. З іншого боку, спрощені моделі формулюють з метою зменшення диференціальних рівнянь.

2. За допомогою узагальнення іонних струмів було вдосконалено модель паралельних провідностей для симуляції ПД клітин САВ людини. ПД та характеристики запропонованої моделі було звірено із сучасними моделями. Основним її перевагами є менша кількість диференціальних рівнянь та модельних параметрів, що спрощує процес ідентифікації параметрів та моделювання ПД в популяціях клітин.

3. Доповнення моделі ПД рівняннями ПП дозволяє отримати бідомну модель. Бідомна модель дозволяє обчислювати ПД та ПП клітин, що розширює можливості вивчення електрофізіології клітин.

4. Використання запропонованої моделі у бідомному підході дозволяє моделювати ПП синоатріальних серцевих клітин людини. Ця комбінація відкриває нові можливості для вивчення взаємозв'язків між внутрішньоклітинними і ПП серцевих клітин.

РОЗДІЛ 3

РЕКОНСТРУКЦІЯ ПОТЕНЦІАЛІВ ДІЇ СЕРЦЕВИХ КЛІТИН НА ОСНОВІ ЇХНІХ ПОЗАКЛІТИННИХ ПОТЕНЦІАЛІВ

3.1 Реконструкція потенціалу дії однієї клітини

Інтегрування формули (2.4) дозволяє отримати формули для двох випадків. У першому випадку один з електродів вважається спільним електродом, який розміщено нескінченно далеко від джерела струму та іншого електрода. Оскільки $\varphi = 0$ при $r = \infty$, то (2.5) визначає φ на проміжку між $r_1 = a$, та $r_2 = \infty$. У другому випадку r_1 та r_2 мають скінченні значення, що дає можливість визначити $\varphi_2 - \varphi_1 = \Delta\varphi$ на проміжку між r_1 та r_2 (рис.3.1):

$$\Delta\varphi = \varphi_2 - \varphi_1 = \frac{C_m}{4\pi\sigma} \frac{dV_m}{dt} \left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right). \quad (3.1)$$

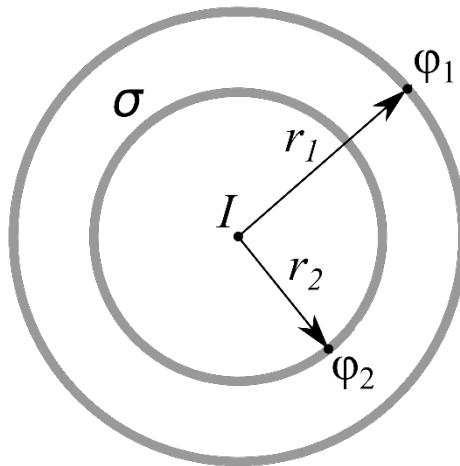


Рис. 3.1 Потенціали φ_1 та φ_2 у точках на відстанях r_1 та r_2 від монопольного джерела струму в позаклітинному середовищі з провідністю σ

Різниця між рівняннями з φ та $\Delta\varphi$ полягає в інтерпретації: формула з φ дозволяє визначати потенціал поля відносно спільного електрода, а $\Delta\varphi$ дозволяє оцінити зміну в потенціалі поля у певному діапазоні відстаней. В модельному експерименті сигнали потенціалів поля будуть мати різну амплітуду, але однакову морфологію, а реальні сигнали можуть мати як різну амплітуду, так і різну морфологію. Така відмінність існує через припущення, які приймають для спрощення моделі:

- гомогенність позаклітинного середовища ($\sigma = \text{const}$);
- ізотропія клітин (клітини мають однакові властивості в різних напрямках);
- розміри клітини значно менші, ніж відстань до електродів (клітина розглядається як точкове джерело струму);
- відмінності у концентраціях іонів на різних відстанях не враховуються;
- взаємодія між клітинами не враховується.

Перелічені спрощення можуть стати причиною того, що потенціал поля буде мати нелінійну залежність від відстані до точки вимірювання. В такому випадку $\Delta\phi$ буде мати більше інформації, ніж ϕ .

Розв'язавши (2.5) відносно напруги на мембрані, отримаємо:

$$V_m(t) = v_0 + \frac{4\sigma\pi}{\left(-\frac{1}{r}\right)C_m} \int_0^t \phi dt = v_0 - \frac{4\sigma\pi r}{C_m} \int_0^t \phi dt.$$

А розв'язавши (3.1) отримаємо:

$$V_m(t) = v_0 + \frac{4\sigma\pi}{C_m \left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2}\right)} \int_0^t (\phi_2 - \phi_1) dt.$$

3.2 Реконструкція синхронних потенціалів дії

Оскільки у мікроелектродних пристроях записують ПП тканин або культур клітин, то необхідно розглянути випадок, коли кількість джерел струму більша 1 [12, 15]. Якщо кількість джерел струму сягає N , тоді кількість рівнянь (3.1) також має збільшитись до N :

$$\left\{ \begin{array}{l} \varphi_{12} - \varphi_{11} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_{m1}}{dt} \left(\frac{1}{r_{11}} - \frac{1}{r_{12}} \right), \\ \varphi_{22} - \varphi_{21} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_{m2}}{dt} \left(\frac{1}{r_{21}} - \frac{1}{r_{22}} \right), \\ \dots \\ \varphi_{i2} - \varphi_{i1} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_{mi}}{dt} \left(\frac{1}{r_{i1}} - \frac{1}{r_{i2}} \right), \\ \dots \\ \varphi_{N2} - \varphi_{N1} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_{mN}}{dt} \left(\frac{1}{r_{N1}} - \frac{1}{r_{N2}} \right). \end{array} \right. \quad (3.2)$$

У системі рівнянь (3.2) кількість електродів обмежена до 2, тому сумуючи всі ці рівняння отримаємо:

$$\sum_{i=1}^N (\varphi_{i2} - \varphi_{i1}) = \sum_{i=1}^N \varphi_{i2} - \sum_{i=1}^N \varphi_{i1} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \sum_{i=1}^N \frac{dV_{mi}}{dt} \left(\frac{1}{r_{i1}} - \frac{1}{r_{i2}} \right). \quad (3.3)$$

Суми потенціалів окремих джерел струму можна представити як:

$$\left\{ \begin{array}{l} \varphi_{\Sigma 1} = \sum_{i=1}^N \varphi_{i1}, \\ \varphi_{\Sigma 2} = \sum_{i=1}^N \varphi_{i2}. \end{array} \right. \quad (3.4)$$

Згідно з (3.4) різниця сумарних потенціалів поля N клітин з (3.3) буде мати вигляд:

$$\varphi_{\Sigma 2} - \varphi_{\Sigma 1} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \sum_{i=1}^N \frac{dV_{mi}}{dt} \left(\frac{1}{r_{i1}} - \frac{1}{r_{i2}} \right). \quad (3.5)$$

Якщо зробити припущення, що мембранні потенціали всіх клітин однакові та синхронні, тоді $V_{mi} = V_m$, а рівняння (3.5) можна спростити до:

$$\varphi_{\Sigma 2} - \varphi_{\Sigma 1} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_m}{dt} \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i1}} - \frac{1}{r_{i2}} \right). \quad (3.6)$$

Розв'язавши рівняння (3.6) відносно мембранного потенціалу V_m отримаємо:

$$V_m(t) = v_0 + \frac{4\sigma\pi}{C_m \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i1}} - \frac{1}{r_{i2}} \right)} \int_0^t (\varphi_{\Sigma 2} - \varphi_{\Sigma 1}) dt. \quad (3.7)$$

3.3 Реконструкція асинхронних потенціалів дії

На відміну від (3.6), рівняння (3.5) має N невідомих, тому для його розв'язку мінімально необхідна кількість електродів сягає $N+1$ [15]. Таким чином, система рівнянь (3.2) для пари електродів j та $j+1$ перетворюється у систему рівнянь:

$$\left\{ \begin{array}{l} \varphi_{1,j+1} - \varphi_{1,j} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_{m1}}{dt} \left(\frac{1}{r_{1,j}} - \frac{1}{r_{1,j+1}} \right), \\ \varphi_{2,j+1} - \varphi_{2,j} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_{m2}}{dt} \left(\frac{1}{r_{2,j}} - \frac{1}{r_{2,j+1}} \right), \\ \dots \\ \varphi_{N,j+1} - \varphi_{N,j} = \frac{C_m}{4\sigma\pi} \frac{dV_{mN}}{dt} \left(\frac{1}{r_{N,j}} - \frac{1}{r_{N,j+1}} \right). \end{array} \right. \quad (3.8)$$

Розв'язуючи кожне рівняння з (3.8) відносно мембранного потенціалу отримаємо:

$$\left\{ \begin{array}{l} V_{m1}(t) = v_{01} + \frac{4\sigma\pi}{C_m \left(\frac{1}{r_{1,j}} - \frac{1}{r_{1,j+1}} \right)} \int_0^t (\varphi_{1,j+1} - \varphi_{1,j}) dt, \\ V_{m2}(t) = v_{02} + \frac{4\sigma\pi}{C_m \left(\frac{1}{r_{2,j}} - \frac{1}{r_{2,j+1}} \right)} \int_0^t (\varphi_{2,j+1} - \varphi_{2,j}) dt, \\ \dots \\ V_{mN}(t) = v_{0N} + \frac{4\sigma\pi}{C_m \left(\frac{1}{r_{N,j}} - \frac{1}{r_{N,j+1}} \right)} \int_0^t (\varphi_{N,j+1} - \varphi_{N,j}) dt. \end{array} \right.$$

Отриману систему рівнянь можна записати наступним чином:

$$\left\{ \begin{array}{l} \left(\frac{1}{r_{1,j}} - \frac{1}{r_{1,j+1}} \right) (V_{m1}(t) - v_{01}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \int_0^t (\varphi_{1,j+1} - \varphi_{1,j}) dt, \\ \left(\frac{1}{r_{2,j}} - \frac{1}{r_{2,j+1}} \right) (V_{m2}(t) - v_{02}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \int_0^t (\varphi_{2,j+1} - \varphi_{2,j}) dt, \\ \dots \\ \left(\frac{1}{r_{N,j}} - \frac{1}{r_{N,j+1}} \right) (V_{mN}(t) - v_{0N}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \int_0^t (\varphi_{N,j+1} - \varphi_{N,j}) dt. \end{array} \right. \quad (3.9)$$

Додавши рівняння з (3.9) для кожної з пар електродів j та $j+1$, отримаємо:

$$\left\{ \begin{array}{l} \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i,1}} - \frac{1}{r_{i,2}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^N \int_0^t (\varphi_{i,2} - \varphi_{i,1}) dt, \\ \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i,2}} - \frac{1}{r_{i,3}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^N \int_0^t (\varphi_{i,3} - \varphi_{i,2}) dt, \\ \dots \\ \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i,N}} - \frac{1}{r_{i,N+1}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^N \int_0^t (\varphi_{i,N+1} - \varphi_{i,N}) dt. \end{array} \right. \quad (3.10)$$

Суму інтегралів різниць потенціалів поля φ в різних точках спотереження можна представити як інтеграл різниць сум. Тоді, згідно (3.4), систему рівнянь (3.10) можна переписати як:

$$\left\{ \begin{array}{l} \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i,1}} - \frac{1}{r_{i,2}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \int_0^t (\varphi_{\Sigma,2} - \varphi_{\Sigma,1}) dt, \\ \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i,2}} - \frac{1}{r_{i,3}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \int_0^t (\varphi_{\Sigma,3} - \varphi_{\Sigma,2}) dt, \\ \dots \\ \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i,N}} - \frac{1}{r_{i,N+1}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \int_0^t (\varphi_{\Sigma,N+1} - \varphi_{\Sigma,N}) dt. \end{array} \right. \quad (3.11)$$

Розв'язок системи рівнянь (3.11) дозволяє отримати мембранні потенціали N клітин використовуючи записи з $N+1$ електродів.

Систему рівнянь (3.11) також можна адаптувати для реконструкції

однакових синхронних ПД в умовах шуму. Якщо прийняти, що $V_{mi} = V_m$, то (3.11) буде виглядати як:

$$\left\{ \begin{array}{l} (V_m(t) - v_0) \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i,1}} - \frac{1}{r_{i,2}} \right) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \int_0^t (\varphi_{\Sigma,2} - \varphi_{\Sigma,1}) dt, \\ (V_m(t) - v_0) \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i,2}} - \frac{1}{r_{i,3}} \right) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \int_0^t (\varphi_{\Sigma,3} - \varphi_{\Sigma,2}) dt, \\ \dots \\ (V_m(t) - v_0) \sum_{i=1}^N \left(\frac{1}{r_{i,N}} - \frac{1}{r_{i,N+1}} \right) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \int_0^t (\varphi_{\Sigma,N+1} - \varphi_{\Sigma,N}) dt. \end{array} \right. \quad (3.12)$$

Така система рівнянь є перевизначеною, адже у системі з N рівнянь присутня тільки 1 невідома змінна V_m . Всі рівняння з (3.12) повинні мати один результат, але коли ПП зашумлені, то розв'язки будуть відрізнятися. Однак, завдяки перевизначеності системи, можна використати методи оптимізації, такі як метод найменших квадратів, для знаходження найкращого наближення до істинного значення V_m . Ці методи мінімізують суму квадратів відхилень між лівою та правою частинами кожного рівняння, зважаючи на всі рівняння одночасно.

3.4 Реконструкція груп з синхронними потенціалами дії

Нехай в середовищі присутні N клітин, які діляться на M груп (кожна з яких має $m_1, m_2, \dots, m_i, \dots, m_M$ клітин). Припустимо, що мембранні потенціали відрізняються між групами, але однакові та синхронні всередині груп [15]. Отже, кількість невідомих змінних можна зменшити з N до M . В такому випадку i -те рівняння з системи (3.11) приймає вигляд:

$$\left\{ \begin{array}{l} \sum_{i=1}^M \left((V_{mi}(t) - v_{0i}) \sum_{k=1}^{m_i} \left(\frac{1}{r_{i,k,1}} - \frac{1}{r_{i,k,2}} \right) \right) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^M \sum_{k=1}^{m_i} \int_0^t (\varphi_{i,k,2} - \varphi_{i,k,1}) dt, \\ \sum_{i=1}^M \left((V_{mi}(t) - v_{0i}) \sum_{k=1}^{m_i} \left(\frac{1}{r_{i,k,2}} - \frac{1}{r_{i,k,3}} \right) \right) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^M \sum_{k=1}^{m_i} \int_0^t (\varphi_{i,k,3} - \varphi_{i,k,2}) dt, \\ \dots \\ \sum_{i=1}^M \left((V_{mi}(t) - v_{0i}) \sum_{k=1}^{m_i} \left(\frac{1}{r_{i,k,j}} - \frac{1}{r_{i,k,j+1}} \right) \right) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^M \sum_{k=1}^{m_i} \int_0^t (\varphi_{i,k,j+1} - \varphi_{i,k,j}) dt, \\ \dots \\ \sum_{i=1}^M \left((V_{mi}(t) - v_{0i}) \sum_{k=1}^{m_i} \left(\frac{1}{r_{i,k,N}} - \frac{1}{r_{i,k,N+1}} \right) \right) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^M \sum_{k=1}^{m_i} \int_0^t (\varphi_{i,k,N+1} - \varphi_{i,k,N}) dt. \end{array} \right. \quad (3.13)$$

Система рівнянь (3.13) перевизначена, адже кількість невідомих в ній менша за кількість рівнянь. Для кожної невідомої змінної існує m_i рівнянь, а для розв'язку системи достатньо мати будь-яке з m_i рівнянь, отже систему (3.13) можна спростити до:

$$\left\{ \begin{array}{l} \sum_{i=1}^M \left(\frac{1}{r_{i,1}} - \frac{1}{r_{i,2}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^M \int_0^t (\varphi_{i,2} - \varphi_{i,1}) dt \\ \sum_{i=1}^M \left(\frac{1}{r_{i,2}} - \frac{1}{r_{i,3}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^M \int_0^t (\varphi_{i,3} - \varphi_{i,2}) dt \\ \dots \\ \sum_{i=1}^M \left(\frac{1}{r_{i,j}} - \frac{1}{r_{i,j+1}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^M \int_0^t (\varphi_{i,j+1} - \varphi_{i,j}) dt \\ \dots \\ \sum_{i=1}^M \left(\frac{1}{r_{i,M}} - \frac{1}{r_{i,M+1}} \right) (V_{mi}(t) - v_{0i}) = \frac{4\sigma\pi}{C_m} \sum_{i=1}^M \int_0^t (\varphi_{i,M+1} - \varphi_{i,M}) dt \end{array} \right. \quad (3.14)$$

Система рівнянь (3.14) має кількість рівнянь, яка дорівнює кількості груп клітин M . Якщо кількість груп M буде рівна кількості клітин N , то система рівнянь (3.14) буде еквівалентною до (3.11), яка відповідає за метод реконструкції різних ПД (однакових та асинхронних; різних та синхронних; різних та асинхронних). В протилежному випадку, якщо кількість груп зменшити

до 1, то система (3.14) буде еквівалентною системі (3.12), яка є перевизначеною системою для методу реконструкції однакових та синхронних ПД. Таким, чином метод реконструкції з поділом на групи комбінує методи для реконструкції різних та однакових, синхронних та асинхронних ПД.

Як і у випадку з (3.12), система рівнянь (3.14) теж може бути перевизначеною, але відносно груп, в яких кількість рівнянь більше 1. Це дає можливість застосувати методи оптимізації, такі як метод найменших квадратів, для знаходження найкращих значень невідомих змінних у кожній групі.

3.5. Ідентифікація відстаней для реконструкції потенціалів дії

Точне визначення розташування клітин є важливим фактором для реконструкції ПД серця за ПП, виміряними за допомогою декількох електродів. Сучасні методи використовують додаткове обладнання, речовини або складні математичні методи для локалізації джерела. Ці методи можуть потенційно втручатися в природний стан клітин або накладати значне обчислювальне навантаження. Представлений метод ґрунтується на сформульованих рівняннях для одновимірного та двовимірного випадків розташування клітин, побудованих для конкретного розташування електродів.

Для того, щоб визначити відстані r_1 і r_2 , рівняння (3.1) можна переписати у вигляді:

$$\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} = \frac{4\pi\sigma}{C_m(V_m - v_0)} \int_0^t (\varphi_2 - \varphi_1) dt.$$

Для випадку з 1 клітиною наведене рівняння може бути розв'язане з використанням ПП, зареєстрованих з будь-якої пари електродів. Тому більшість параметрів залишається незмінною, за винятком інтеграла різниці потенціалів та відповідних відстаней між електродами:

$$\begin{cases} \frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} = \frac{4\pi\sigma}{C_m(V_m - v_0)} \int_0^t (\varphi_2 - \varphi_1) dt, \\ \frac{1}{r_2} - \frac{1}{r_3} = \frac{4\pi\sigma}{C_m(V_m - v_0)} \int_0^t (\varphi_3 - \varphi_2) dt. \end{cases}$$

Знаходження співвідношення між цими двома рівняннями призводить до єдиного рівняння з 3 невідомими відстанями r_1 , r_2 , r_3 і змінною c_1 , яку можна визначити з відношення інтегралів різниці ПП:

$$\frac{\left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2}\right)}{\left(\frac{1}{r_2} - \frac{1}{r_3}\right)} = \frac{\int_0^t (\varphi_2 - \varphi_1) dt}{\int_0^t (\varphi_3 - \varphi_2) dt} \Rightarrow \frac{(r_2 - r_1)r_2r_3}{(r_3 - r_2)r_1r_2} = c_1. \quad (3.15)$$

Оскільки електроди в МЕР розташовані у відомих положеннях, відстані в рівнянні вище можна вважати як:

$$r_i = \sqrt{(x_s - x_i)^2 + (y_s - y_i)^2},$$

де x_s та y_s – координати x та y джерела струму, а x_i та y_i – координати x та y електрода i .

В одновимірному випадку y_s буде дорівнювати y_i , тому r_i можна спростити до:

$$r_i = \sqrt{(x_s - x_i)^2 + 0} = |x_s - x_i|.$$

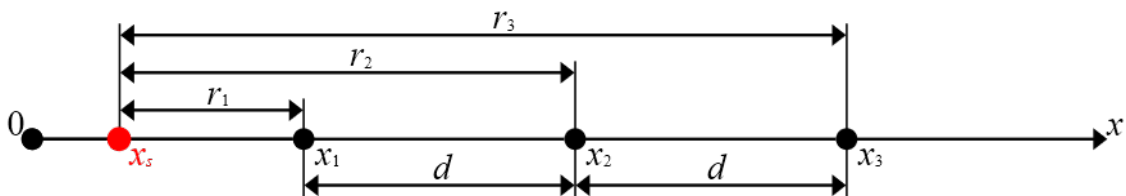


Рис. 3.2 Випадок, коли клітина (червона точка) розташована зліва від електродів на одновимірній МЕР

Розглядаючи рівняння вище, можна перетворити (3.15) в рівняння з одним невідомим x_s :

$$\frac{(|x_s - x_2| - |x_s - x_1|)|x_s - x_3|}{(|x_s - x_3| - |x_s - x_2|)|x_s - x_1|} = c. \quad (3.16)$$

Враховуючи, що кожен модуль може мати два можливих рішення, то всього може бути 8 комбінацій рівнянь. Оскільки електроди розташовані на прямій лінії, деякі з цих комбінацій неможливі (наприклад, якщо джерело розташоване між 1-м і 2-м електродами ($x_s > x_1$ і $x_s < x_2$), то повинна виконуватися умова $x_s < x_3$ і т.д.). Тільки 4 з 8 комбінацій відповідають можливим розташуванням джерела відносно електродів:

- 1) $x_s - x_1 < 0, \quad x_s - x_2 < 0, \quad x_s - x_3 < 0 \quad \Rightarrow \quad x_s < x_1, \quad x_s < x_2, \quad x_s < x_3;$
- 2) $x_s - x_1 > 0; \quad x_s - x_2 < 0; \quad x_s - x_3 < 0 \quad \Rightarrow \quad x_s > x_1; \quad x_s < x_2; \quad x_s < x_3;$
- 3) $x_s - x_1 > 0; \quad x_s - x_2 > 0; \quad x_s - x_3 < 0 \quad \Rightarrow \quad x_s > x_1; \quad x_s > x_2; \quad x_s < x_3;$
- 4) $x_s - x_1 > 0; \quad x_s - x_2 > 0; \quad x_s - x_3 > 0 \quad \Rightarrow \quad x_s > x_1; \quad x_s > x_2; \quad x_s > x_3.$

У 1-му випадку джерело розташоване зліва від усіх електродів на відстані r_1 від 1-го електрода, r_2 і r_3 від 2-го та 3-го електродів, відповідно (рис. 3.2). Враховуючи ці нерівності, аналітичний розв'язок має вигляд:

$$x_s = \frac{-c_1 x_1 x_3 + c_1 x_1 x_2 + x_2 x_3 - x_1 x_3}{-c_1 x_3 + c_1 x_2 + x_2 - x_1}.$$

У 2-му випадку джерело розташоване праворуч від 1-го електрода на відстані r_1 , а також ліворуч від 2-го і 3-го електродів на відстанях r_2 і r_3 , відповідно (рис. 3.3). Для цього випадку може бути два аналітичних розв'язки:

$$x_s^+ = \frac{-(c_1 x_3 - c_1 x_2 + x_2 + x_1 + 2x_3) + \sqrt{(x_3(c_1 + 2) - x_2(c_1 - 1) + x_1)^2 + 8(c_1 x_1(x_2 - x_3) - x_3(x_1 + x_2))}}{-4},$$

$$x_s^- = \frac{-(c_1 x_3 - c_1 x_2 + x_2 + x_1 + 2x_3) - \sqrt{(x_3(c_1 + 2) - x_2(c_1 - 1) + x_1)^2 + 8(c_1 x_1(x_2 - x_3) - x_3(x_1 + x_2))}}{-4}.$$

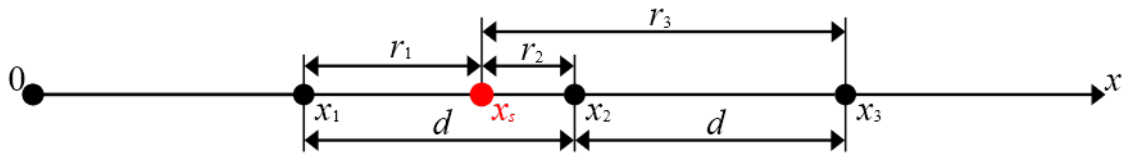


Рис. 3.3 Випадок, коли клітина (червона точка) розташована між 1-м і 2-м електродами на одновимірній МЕР

Оскільки існує два розв'язки, правильний можна підтвердити, знайшовши розв'язок для інших трьох електродів, наприклад: для 2-го, 3-го і 4-го електродів.

У 3-му випадку джерело розташоване праворуч від 1-го і 2-го електродів на відстанях r_1 і r_2 , а також ліворуч від 3-го електрода на відстані r_3 (рис. 3.4). Аналогічно 2-му випадку є також 2 аналітичні розв'язки:

$$x_s^+ = \frac{-(c_1 x_3 + c_1 x_2 + 2c_1 x_1 + x_1 - x_2) + \sqrt{(x_1(2c_1 + 1) + x_2(c_1 - 1) + c_1 x_3)^2 + 8c_1(-c_1 x_1(x_3 + x_2) + x_3(x_2 - x_1))}}{-4c_1},$$

$$x_s^- = \frac{-(c_1 x_3 + c_1 x_2 + 2c_1 x_1 + x_1 - x_2) - \sqrt{(x_1(2c_1 + 1) + x_2(c_1 - 1) + c_1 x_3)^2 + 8c_1(-c_1 x_1(x_3 + x_2) + x_3(x_2 - x_1))}}{-4c_1}.$$

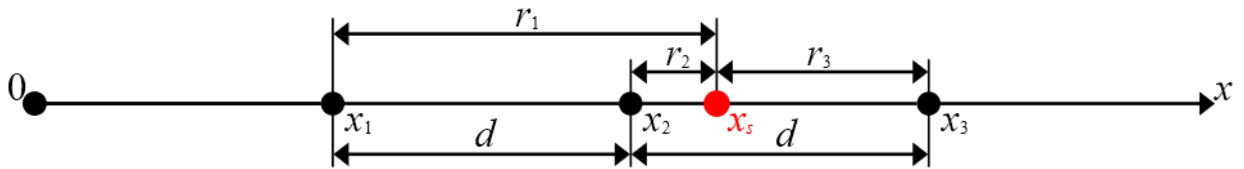


Рис. 3.4 Випадок, коли клітина (червона точка) розташована між 2-м і 3-м електродами на одновимірній МЕР

У 4-му випадку джерело розташоване праворуч від усіх електродів на відстані r_1 , r_2 і r_3 від 1-го, 2-го і 3-го електродів відповідно (рис. 3.5). Аналітичний розв'язок для цього випадку еквівалентний аналітичному розв'язку для 1-го випадку:

$$x_s = \frac{c_1 x_1 x_2 - c_1 x_1 x_3 - x_1 x_3 + x_2 x_3}{c_1 x_2 - c_1 x_3 - x_1 + x_2}.$$

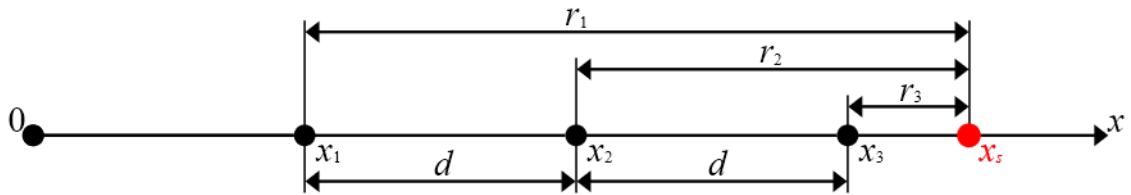


Рис. 3.5 Випадок, коли клітина (червона точка) розташована праворуч від електродів на одновимірній МЕР

Якщо джерело не обмежується одновимірністю, то рівняння (3.16) матиме вигляд:

$$\frac{\left(\sqrt{(x_s - x_2)^2 + (y_s - y_2)^2} - \sqrt{(x_s - x_1)^2 + (y_s - y_1)^2}\right)\sqrt{(x_s - x_3)^2 + (y_s - y_3)^2}}{\left(\sqrt{(x_s - x_3)^2 + (y_s - y_3)^2} - \sqrt{(x_s - x_2)^2 + (y_s - y_2)^2}\right)\sqrt{(x_s - x_1)^2 + (y_s - y_1)^2}} = c.$$

Оскільки існують дві невідомі величини x_s та y_s , то для розв'язку необхідно мати два рівняння. Друге рівняння можна сформулювати, обравши ще 3 електроди, наприклад, 2-й, 3-й та 4-й:

$$\begin{cases} \frac{\left(\sqrt{(x_s - x_2)^2 + (y_s - y_2)^2} - \sqrt{(x_s - x_1)^2 + (y_s - y_1)^2}\right)\sqrt{(x_s - x_3)^2 + (y_s - y_3)^2}}{\left(\sqrt{(x_s - x_3)^2 + (y_s - y_3)^2} - \sqrt{(x_s - x_2)^2 + (y_s - y_2)^2}\right)\sqrt{(x_s - x_1)^2 + (y_s - y_1)^2}} = c_1, \\ \frac{\left(\sqrt{(x_s - x_3)^2 + (y_s - y_3)^2} - \sqrt{(x_s - x_2)^2 + (y_s - y_2)^2}\right)\sqrt{(x_s - x_4)^2 + (y_s - y_4)^2}}{\left(\sqrt{(x_s - x_4)^2 + (y_s - y_4)^2} - \sqrt{(x_s - x_3)^2 + (y_s - y_3)^2}\right)\sqrt{(x_s - x_2)^2 + (y_s - y_2)^2}} = c_2. \end{cases}$$

Висновки до розділу 3

У даному розділі викладено наступні напрацювання:

1. На основі теорії поля розв'язано обернену задачу реконструкції ПД N серцевих клітин з їхніх $N+1$ ПП. Метод адаптовано для випадків, коли клітини мають:

- а) синхронні та однакові ПД;
- б) синхронні, але різні ПД;

- в) асинхронні, але однакові ПД;
- г) асинхронні та різні ПД;
- д) групи з синхронними та однаковими потенціалами дії;
- е) групи з синхронними, але різними потенціалами дії.

2. Для клітин з синхронними та однаковими потенціалами дії розроблено метод, який дозволяє реконструювати усереднений ПД N клітин використовуючи будь-які 2 електроди.

3. Випадок різних ПД представляє собою сценарій, коли різні клітини мають різні морфології ПД. У синхронному випадку хоч ці ПД і мають різні морфології, але їх фази синхронізовані. У асинхронному випадку відмінні не тільки морфології ПД, але і їхні фази. Для N клітин з різними потенціалами дії (синхронними або асинхронними) розроблено метод, який дає змогу реконструювати їхні ПД з $N+1$ ПП.

4. Якщо ПД синхронні та однакові, але морфології їхніх ПД різні через шум, то ПД можна реконструювати використовуючи формулу для різних ПД. Метод реконструкції для різних ПД використовує систему з N рівнянь з N невідомими, але внаслідок синхронності та однаковості ПД кількість невідомих зменшується до 1, і система рівнянь стає перевизначеною. Це дає змогу оптимізувати результат за допомогою мінімізації похибок розв'язків системи рівнянь.

5. Поділ N клітин на M груп, в яких ПД клітин однакові та синхронні між собою, дозволяє скоротити кількість невідомих з N до M . З одного боку, якщо кількість груп дорівнює кількості клітин, то цей метод стає ідентичним до методу з різними потенціалами дії. З іншого боку, якщо кількість груп дорівнює 1, то цей метод перетворюється на метод з однаковими та синхронними потенціалами дії. Коли кількість груп більша 1, але менша від кількості клітин, то утворена система рівнянь буде перевизначеною відносно груп, в яких кількість рівнянь більша 1.

6. Для реалізації методу реконструкції ПД з ПП важливо виконати

ідентифікацію відстаней між клітинами та електродами. Ці відстані залежать від геометрії системи та розташування клітин у середовищі. Але, оскільки в системах з МЕР відоме місце розташування електродів, то ідентифікацію відстаней можна проводити враховуючи геометрію решіток та відповідні відношення ПП. В роботі отримано аналітичний розв'язок для визначення відстаней від електродів до клітини в 1-вимірному та 2-вимірному випадках.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА КЛАСИФІКАЦІЯ ПОЗАКЛІТИННИХ ПОТЕНЦІАЛІВ ТА РЕКОНСТРУЙОВАНИХ ПОТЕНЦІАЛІВ ДІЇ

4.1 Обробка позаклітинних потенціалів

Використання МЕР дозволяє реєструвати електричну активність багатьох клітин одночасно, однак, у зв'язку з можливою присутністю різноманітних шумів та артефактів, які супроводжують реєстрацію, виникає потреба у обробці сигналів для отримання даних, які коректно представляють ПП клітин.

4.1.1 Фільтрація позаклітинних потенціалів

Використання цифрових фільтрів дозволяє виділяти частотні компоненти сигналу та пригнічувати шуми інших частот. Комбінації фільтрів низьких та високих частот можуть допомогти відокремити корисний сигнал від шуму.

Вейвлет-перетворення – це потужний метод перетворення сигналів, який представляє сигнал у вигляді суми вейвлет-функцій різних частот та масштабів. Це дозволяє аналізувати сигнал на різних рівнях декомпозиції, що робить вейвлет-перетворення ефективним в розкладанні сигналів на компоненти різних частот та вилученні шумів й інших артефактів [79].

Метод власних підпросторів є ще одним ефективним інструментом в області обробки сигналів. Цей метод базується на концепції власних значень та власних векторів матриць, що представляють сигнали та їхню статистику. В цьому методі сигнали можуть бути представлені у вигляді матриці, де рядки відповідають різним каналам (електродам) або періодам одного окремого сигналу, а стовпці представляють відліки у часі. Використовуючи алгоритми власних підпросторів, ця матриця розкладається на власні вектори та власні значення. Власні вектори вказують на напрямки максимальної варіації в сигналі, в той час як власні значення визначають вагомість кожного власного вектору. Зазвичай, власні вектори, що відповідають власним значенням із найбільшою вагою, представляють головні компоненти сигналу, тоді як менш важливі

компоненти можуть бути усунуті, щоб вилучити шуми та артефакти. Такий підхід дозволяє проводити ефективне знешумлення, а також зменшувати розмірність сигналу, зберігаючи при цьому важливі інформаційні компоненти.

Для порівняння різних методів було проведено числові експерименти зі знешумлення симульованих сигналів ПП шлуночкових кардіоміоцитів за допомогою вейвлет-перетворення, методу власних підпросторів та їхньої комбінації [11]. Якість знешумлення оцінювалася на основі метрики RRMSE:

$$\text{RRMSE} = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^{n-1} (E_i - E_i^*)^2}{\sum_{i=0}^{n-1} E_i^2}} \cdot 100\%,$$

де E_i – симульований сигнал ПП, E_i^* – знешумлений сигнал, n – довжина цифрового сигналу (кількість відліків i).

Знешумлення з вейвлет-перетворенням при SNR = 40 дБ показало хороші результати з RRMSE (Relative Root Mean Squared Error) = 4,8%, однак використання вейвлет-знешумлення з нижчим SNR призвело до значного збільшення RRMSE. Знешумлення методу власних підпросторів показало значно краще результати (в середньому в 3.8 разів), ніж вейвлет-знешумлення, але RRMSE = 12.4% при SNR = 20 дБ. Використання комплексного методу знешумлення з використанням вейвлет-знешумлення та знешумлення з використанням власних підпросторів, виявилось більш ефективними для зменшення RRMSE при низькому SNR (Таблиця 4.1 та Рис. 4.1): за SNR = 40 дБ, покращення RRMSE комплексного знешумлення становило всього 0.13% порівняно з використанням лише методу власних підпросторів, а при SNR = 20 дБ різниця RRMSE між комплексним методом та методом власних підпросторів становила вже 1.6%. Діапазон SNR 20 дБ і вище був обраний на основі SNR, вимірюваного із записів ПП серцевих клітин. ПД та, відповідно, ПП різних типів клітин можуть мати різну морфологію, тому результати наведені в табл. 4.1 актуальні перш за все для шлуночкових кардіоміоцитів та сигналів, які мають

схожі ПП.

Таблиця 4.1 Методи знешумлення та їх RRMSE при різних SNR [11].

Метод знешумлення	RRMSE (%)		
	SNR, 20 дБ	SNR, 30 дБ	SNR, 40 дБ
Вейвлет знешумлення (Daubechies 4, level 4)	45.5	15.2	4.7
Метод власних підпросторів	12.4	3.9	1.2
Вейвлет знешумлення (Daubechies 4, level 4) + метод власних підпросторів	10.7	3.5	1.1

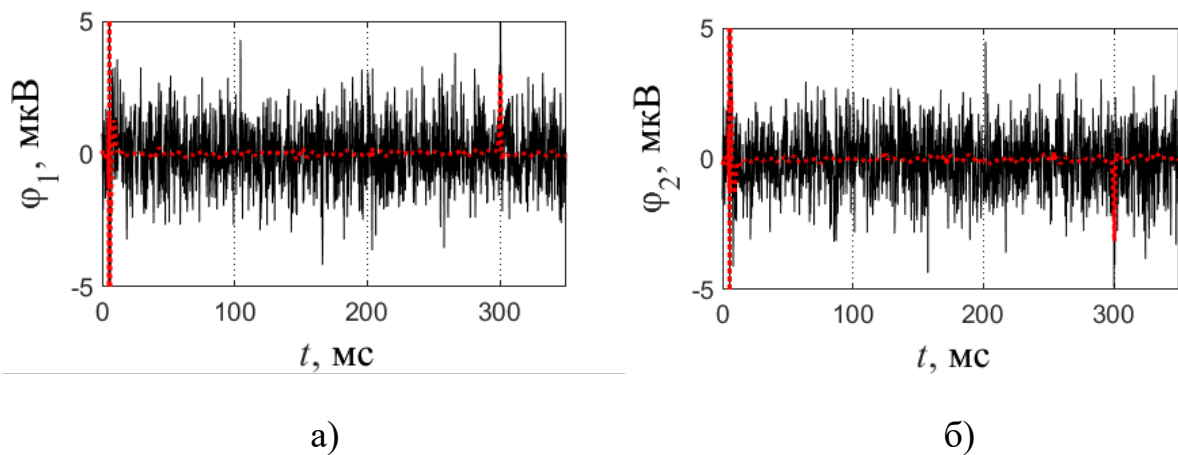


Рис. 4.1 Потенціали ϕ_1 та ϕ_2 :

- а) потенціал ϕ_1 з білим гаусовим шумом (SNR = 20 дБ) (суцільна чорна лінія)
і знешумлений потенціал ϕ_1 (червона пунктирна лінія);
- б) потенціал ϕ_2 з білим гаусовим шумом (SNR = 20 дБ) (суцільна чорна лінія)
і знешумлений потенціал ϕ_2 (червона пунктирна лінія)

4.1.2 Сегментація позаклітинних потенціалів

Обробка ПП може включати кілька ключових етапів. Наступним можливим етапом після фільтрації є сегментація сигналу, тобто його поділ на окремі періоди або сегменти. Для цього можуть використовуватися методи порогової фільтрації, кореляції або зіставлення зразків.

Порогова фільтрація передбачає вибір порогового значення або інтервалу значень, які присутні на кожному сегменті та відстань між якими дорівнює довжині періоду. В ПД такі значення відповідають максимальній амплітуді після деполяризації або мінімальній амплітуді після реполяризації, а в ПП таким точкам – піки зубців деполяризації. Застосування цього методу передбачає:

1. Визначення порогового рівня амплітуди. Це може бути здійснено експериментально або на підставі аналізу характерних властивостей сигналів.
2. Сегменти формуються на основі перетину амплітудного сигналу з визначеним порогом. Кожен такий перетин може слугувати визначником окремого періоду.
3. Отримані сегменти можуть бути піддані подальшій обробці для видалення неправильних перетинань або аналізу з визначенням тривалості, інтервалів між деполяризаціями та інших параметрів.

Використання функції кореляції дозволяє виявити схожість між шаблоном (наприклад, зразком зубця деполяризації) та сигналом. Підібраний поріг кореляції може слугувати для визначення початку сегменту. Зазвичай алгоритм використання функції кореляції передбачає наступні кроки:

1. Початковим етапом є визначення еталонного зразка. Це може бути здійснено шляхом відбору та усереднення окремих сегментів із сигналу або створення стандартного шаблону.
2. Кореляційна функція використовується для визначення ступеня лінійної взаємозалежності між еталонним зразком і сигналом на різних проміжках часу.
3. Встановлюється пороговий рівень кореляції, який визначає мінімальний допустимий ступінь схожості між сигналом та еталонним зразком.
4. В тих вікнах, де значення кореляції перевищує поріг, відзначаються моменти максимальної кореляції. Це може відбуватися за допомогою визначення пікових точок або фіксації початку та завершення інтервалів максимальної кореляції.

5. Отримані моменти або інтервали максимальної кореляції визначають границі сегментів. Таким чином, сигнал розділяється на окремі фази, або сегменти.
6. Сегменти можуть бути додатково проаналізовані після обчислення таких параметрів як середнє значення, інтервал між деполяризаціями, максимальна та мінімальна амплітуди, тощо.

Метод порівняння зразків складається із зіставлення еталонних зразків із сигналом та може вважатися більш узагальненим підходом використання функції кореляції. Він складається з тих самих кроків, але також передбачає вибір метрики схожості. В зіставленні зразків використовуються різні метрики, такі як відстань між сигналами або косинусна схожість, в той час як для кореляції вимірюється ступінь лінійної взаємозалежності.

4.2 Кардіотоксичність препаратів

Кардіотоксичність — це властивість речовин або лікарських засобів викликати пошкодження серцево-судинної системи. Це серйозна проблема в медицині, оскільки серцеві захворювання становлять одну з основних причин смертності у світі. Багато лікарських препаратів проявляють кардіотоксичні властивості, і вивчення цього явища є надзвичайно важливим для здоров'я пацієнтів [80].

Кардіотоксичність може бути викликана різними механізмами. Один з них — це прямий вплив на клітини міокарда. Деякі лікарські препарати можуть призводити до пошкодження м'язових клітин серця, зокрема шляхом зміни їхньої структури або функції. Інший механізм пов'язаний з впливом на провідні системи серця, такі як система провідності серця та автоматизм. Зміни в цих системах можуть викликати аритмії та порушення ритму серця. Деякі речовини можуть також викликати кардіотоксичність через взаємодію з важливими молекулами, такими як ензими або рецептори, що змінюють регуляцію серцевого ритму та функції.

Багато лікарських препаратів можуть мати кардіотоксичний вплив. Антиаритмічні препарати, які використовують для боротьби з аритміями за певних умов можуть призводити до порушень серцевого ритму. Антибіотики, такі як антрацикліни, відомі своєю здатністю викликати ураження міокарда.

Вивчення кардіотоксичності включає різноманітні методи та підходи, що дозволяють оцінити вплив речовин на серцево-судинну систему. Найважливіші методи досліджень включають:

1. Клітинні моделі:

Культири клітин серця. Використовуються ізольовані клітини серця для вивчення впливу речовин на м'язові клітини [81].

Клітинні лінії. Деякі клітинні лінії можуть слугувати моделями для дослідження кардіотоксичності [82].

2. Тваринні моделі:

Мишачі та щурячі моделі. Дослідження проводять на тваринах для вивчення системного впливу речовин на серцево-судинну систему [81].

ЕКГ-моніторинг. Записи електрокардіограми у тварин можуть допомагати виявляти зміни у серцевому ритмі та провідності [83].

3. Електрофізіологічні методи:

Електрокардіографія. Використовується для оцінки електричної активності серця та виявлення змін у ритмі та провідності [83, 84].

Електрофізіологічні дослідження in vitro. Включають дослідження серцевих клітин та виявлення аритмій [80].

4. Біохімічні та молекулярні методи:

Біомаркери. Визначення рівнів біомаркерів, таких як тропоніни, які можуть свідчити про пошкодження м'язових клітин [85].

Генетичні дослідження. Аналіз генетичних механізмів, які можуть впливати на реакцію серця на різні речовини [86].

5. Клінічні дослідження:

Клінічні випробування. Вивчення впливу лікарських препаратів на пацієнтів, включаючи моніторинг серцево-судинного стану та виявлення побічних ефектів [84].

Ретроспективний аналіз. Аналіз випадків кардіотоксичності в історії лікування пацієнтів [87].

Ці методи використовуються як окремо, так і в комбінації, щоб отримати комплексну оцінку кардіотоксичності речовини або лікарського засобу.

Дослідження кардіотоксичності є невід'ємною частиною процесу розробки нових лікарських препаратів та вдосконалення існуючих. Навіть після того, як лікарський препарат отримав схвалення від регуляторних органів таких як Food and Drug Administration (FDA) і введений у клінічну практику, існує можливість, що він може проявити кардіотоксичні властивості в процесі використання на різних пацієнтах або за якихось особливих умов. Причини цього можуть включати [88]:

1. Індивідуальні відмінності пацієнтів. Реакція на лікарські препарати може варіювати в залежності від генетичних особливостей та інших факторів, що впливають на індивідуальну чутливість до препарату.

2. Взаємодія з іншими ліками. Використання кількох лікарських препаратів одночасно може призводити до непередбачених взаємодій, які можуть впливати на серцево-судинну систему.

3. Довготривала експозиція. Деякі побічні ефекти, включаючи кардіотоксичність, можуть стати помітними лише при тривалому використанні препарату.

4. Нові дані та відкриття. Деякі кардіотоксичні ефекти можуть стати відомими лише після того, як препарат вже введений у клінічну практику, оскільки подальше спостереження та додаткові дослідження можуть виявити нові аспекти або механізми дії препарату.

5. Дозозалежна токсичність. Низькі дози препарату можуть бути безпечними або мати мінімальний ефект на серцево-судинну систему, але зі збільшенням дози може збільшуватися ризик кардіотоксичності.

Існують декілька механізмів, які можуть пояснити дозозалежну токсичність [88]:

1. Насичення рецепторів. З деякими лікарськими речовинами спостерігається насичення рецепторів, що означає, що при низьких дозах препарати можуть взаємодіяти лише з обмеженою кількістю рецепторів. При збільшенні дози цей механізм може привести до несприятливих ефектів, включаючи кардіотоксичність.

2. Метаболізм. Збільшення дози може впливати на обсяг метаболізму препарату в організмі. При великих дозах може виникнути накопичення токсичних метаболітів, що призводить до кардіотоксичних ефектів.

3. Системи виведення. Великі дози препаратів можуть перевантажувати системи виведення організму, у результаті чого може зменшитися швидкість виведення препарату та його токсичності.

4. Дозозалежна активація шляхів сигналізації. Деякі препарати можуть активувати сигнальні системи клітин серця, які призводять до кардіотоксичних ефектів тільки при певних концентраціях.

Таким чином, важливо встановлювати оптимальні дози лікарських препаратів для досягнення максимальної ефективності при мінімізації можливих побічних ефектів, включаючи кардіотоксичність.

4.3 Позаклітинні потенціали та потенціали дії в оцінці кардіотоксичності препаратів

Дослідження кардіотоксичності є невід'ємною частиною оцінки безпеки фармакологічних препаратів. ПД, що генеруються та поширюються в клітинах серця відповідають за його ритмічне скорочення. Різні параметри ПД можуть

вказувати на електрофізіологічні зміни, спричинені потенційно кардіотоксичними речовинами. ПД характеризуються такими параметрами як мембранний потенціал спокою, пороговий потенціал, максимална та мінімальна амплітуда, тривалість ПД та його фаз, за кожен з яких відповідають різні іонні канали або їх групи (табл. 4.2 та рис. 4.2) [89].

Мембранний потенціал спокою — це напруга на клітинній мембрані в стані спокою, тоді як пороговий потенціал — це напруга, за якої починається фаза деполяризації ПД. Значне відхилення цих параметрів від норми під дією препарату може означати зміну в процесах електричної активності клітини, що може свідчити про кардіотоксичність.

Амплітуда ПД, виміряна від мембранного потенціалу спокою до піку ПД, і тривалість, що охоплює весь період ПД, включаючи реполяризацію, також є ключовими. Зміни в цих параметрах можуть відображати порушення функції іонних каналів та, відповідно, спричинити кардіотоксичність.

Кожна фаза ПД характеризується активністю іонних каналів, порушення яких може призвести до аритмій та інших аномалій. Аналіз поведінки цих фаз за різних умов дозволяє краще зрозуміти можливі кардіотоксичні ефекти.

Таблиця 4.2 Перелік параметрів ПД та ПП.

Абревіатура	Повна назва	Визначення
THR	threshold	порогове значення ПД з якого починається деполяризація
PP	peak potential	пікове значення, якого досягає ПД
MDP ₁	maximum diastolic potential 1	мінімальне значення ПД за якого закінчується фаза реполяризації минулого ПД та починається фаза потенціалу спокою/повільної деполяризації поточного ПД
MDP ₂	maximum diastolic potential 2	мінімальне значення ПД за якого закінчується фаза реполяризації поточного ПД та починається фаза потенціалу спокою/повільної деполяризації наступного ПД
APA	action potential	повна амплітуда ПД, яка визначається як

	amplitude	різниця між PP та MDP ₂
MUV	maximum upstroke velocity	максимальне значення похідної ПД під час деполяризації
MRR	maximum repolarization rate	мінімальне значення похідної ПД під час реполяризації
CL	cycle length	тривалість інтервалу ПД між MDP ₁ та MDP ₂
FR	firing rate	частота генерації ПД
PMD	pacemaker phase duration	тривалість фази повільної деполяризації ПД, яка відповідає тривалості інтервалу між MDP ₁ та THR
APD	action potential duration	тривалість інтервалу ПД між THR та MDP ₂
APD ₅₀		тривалість інтервалу ПД, між THR та моментом, коли амплітуда реполяризації досягає 50% від значення АРА
APD ₇₀		тривалість інтервалу ПД, між THR та моментом, коли амплітуда реполяризації досягає 70% від значення АРА
APD ₉₀		тривалість інтервалу ПД, між THR та моментом, коли амплітуда реполяризації досягає 90% від значення АРА
APD ₉₀₋₇₀		різниця між APD ₉₀ та APD ₇₀

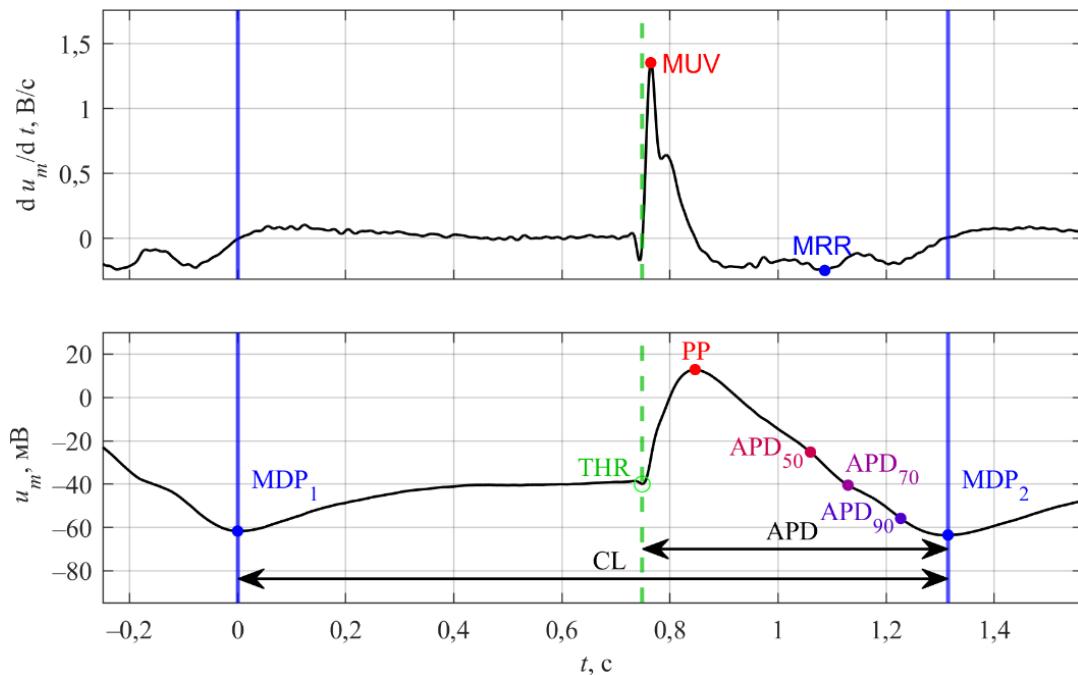


Рис. 4.2 Параметри ПП (зверху) та ПД (знизу)

Потенціал спокою

Потенціал спокою є початковою фазою в генерації ПД. Стабільний потенціал спокою має вирішальне значення, оскільки він забезпечує повернення мембранного потенціалу до стану спокою після кожного ПД, готуючи клітину до наступного ПД. Зміни в потенціалі спокою можуть впливати на пороговий потенціал, тим самим впливаючи на збудливість серцевих клітин. Наприклад, гіперполяризований потенціал спокою може збільшити час, який потрібен для досягнення порогу ініціації фази деполяризації ПД, потенційно впливаючи на частоту серцевих скорочень та серцевий ритм.

Пороговий потенціал

Пороговий потенціал (THR) позначає мінімальну напругу, необхідну для ініціювання ПД в клітинах серця. Він означає точку, в якій мембранний потенціал серцевої клітини деполяризується достатньо, щоб подолати внутрішньоклітинні та позаклітинні іонні сили, які в іншому випадку підтримують ПД у фазі спокою. Ініціація та поширення ПД є вирішальними для скоординованого скорочення серцевих тканин, що робить пороговий потенціал одним із найважливіших параметрів електричної активності кардіоміоцитів.

У контексті аналізу кардіотоксичності зміни порогового потенціалу можуть вказувати на зміну збудливості клітин серця. Такі відхилення можуть виникати внаслідок впливу кардіотоксичних агентів на іонні канали, зокрема ті, що беруть участь в ініціації ПД, такі як натрієві та кальцієві канали. Нижчий пороговий потенціал може вказувати на підвищену збудливість, тоді як вищий пороговий потенціал може означати знижену збудливість. Обидва випадки можуть порушити нормальний серцевий ритм, потенційно призводячи до аритмій або інших серцевих дисфункцій.

Піковий потенціал

Піковий потенціал (PP) представляє максимальну напругу ПД, досягнуту під час фази деполяризації. У клітинах САВ досягненню максимального

потенціалу в першу чергу сприяє притік іонів кальцію в середину клітини крізь кальцієві канали L-типу. В інших типах серцевих клітин піковий потенціал залежить від притоку іонів натрію.

Кардіотоксичні агенти можуть викликати зміни в піковому потенціалі шляхом модуляції функції або експресії іонних каналів, зокрема кальцієвих каналів L-типу в клітинах САВ. Така модуляція може порушити баланс іонних градієнтів, відповідно впливаючи на величину деполяризації мембрани. Змінений піковий потенціал може вказувати на відхилення від нормального електрофізіологічного стану серцевих клітин, що, у свою чергу, може вплинути на ритмічні скорочення серця. Крім того, зміна максимального потенціалу може також впливати на наступні фази ПД, змінюючи тривалості фази деполяризації та реполяризації, потенційно впливаючи на весь період ПД.

При оцінці кардіотоксичності аналіз максимального потенціалу дає змогу зрозуміти можливі електрофізіологічні зміни, викликані фармакологічними агентами або іншими речовинами. Наприклад, зниження пікового потенціалу може вказувати на пригнічення кальцієвих каналів L-типу, що може бути результатом блокуючої дії кардіотоксичного агента. І навпаки, підвищення пікового потенціалу може означати збільшення проникності кальцієвих каналів, що також може мати значні наслідки для серцевого ритму.

Максимальний діастолічний потенціал

Максимальний діастолічний потенціал (MDP) представляє найбільш негативний мембранний потенціал, досягнутий серцевими клітинами протягом скорочення. На відміну від інших серцевих клітин, клітини САВ демонструють поступову деполяризацію від MDP до порогового потенціалу, тому MDP має важливе значення, оскільки він закладає основу для подальшої спонтанної деполяризації, що призводить до генерації ПД.

Значення MDP є важливим для оцінки кардіотоксичності, оскільки воно може допомогти зрозуміти вплив кардіотоксичних препаратів на мембранний потенціал спокою клітин САВ. Зміни в MDP можуть виникати внаслідок змін у

функції або експресії іонних каналів, насамперед калієвих каналів, які активні під час фази реполяризації. Кардіотоксичні речовини можуть модулювати активність цих каналів, впливаючи на MDP і, отже, на швидкість спонтанної деполяризації. Наприклад, збільшення MDP може потенційно прискорити процес спонтанної деполяризації, призводячи до тахікардії, тоді як зменшення MDP (або гіперполяризація) може сповільнити цей процес, призводячи до брадикардії.

Амплітуда потенціалу дії

Амплітуда ПД (APA) розраховується як різниця між піковим потенціалом (PP) і максимальним діастолічним потенціалом (MDP). У той час як PP означає найвищу напругу, досягнуту під час деполяризації, а MDP означає найбільш негативний потенціал після реполяризації, APA охоплює весь діапазон амплітуд ПД.

Зміни в APA, так як і зміни в PP та MDP, можуть вказувати на зміни у функції або експресії іонних каналів. Наприклад, зниження APA може вказувати на порушення функції кальцієвих каналів L-типу, важливих для деполяризації, або калієвих каналів, необхідних для реполяризації, або обидва сценарії одночасно, причому всі перелічені приклади можуть бути результатом дії кардіотоксичних агентів.

Максимальна швидкість деполяризації

Максимальна швидкість деполяризації (MUV) є параметром, який представляє швидкість деполяризації мембрани під час ПД. Це часто пов'язано з функціональністю іонних каналів, які сприяють швидкому притоку іонів у клітину, підвищуючи мембранний потенціал до пікового. У клітинах САВ на MUV значною мірою впливає активність кальцієвих каналів, на відміну від інших клітинах серця, в яких переважають натрієві канали. Таким чином, варіації MUV можуть вказувати на зміни у функції або експресії іонних кальцієвих або натрієвих каналів. Кардіотоксичні агенти можуть модулювати активність цих каналів, тим самим впливаючи на MUV. Зменшення MUV потенційно може

означати пригнічення функції кальцієвих каналів, що може призвести до уповільнення швидкості деполяризації. І навпаки, збільшення MUV може вказувати на збільшення проникності кальцієвих каналів, що може мати значні наслідки для серцевого ритму.

Максимальна швидкість реполяризації

Максимальна швидкість реполяризації (MRR) визначає швидкість, з якою клітини серця повертаються до свого мембранного потенціалу спокою після фази деполяризації. Цей параметр є ключовим для належного припинення ПД та початку підготовки клітин до наступних явищ деполяризації. У клітинах САВ на MRR переважно впливають калієві канали, які керують витоком іонів калію, таким чином сприяючи реполяризації мембрани. Кардіотоксичні препарати можуть модулювати активність калієвих каналів, тим самим впливаючи на MRR. Зменшення MRR може означати повільнішу реполяризацію, що може подовжити тривалість ПД, потенційно призводячи до аритмій. І навпаки, збільшення MRR може означати швидшу реполяризацію, яка може скоротити тривалість ПД та спричинити зміни у серцевому ритмі.

Тривалість періоду (CL) і частота генерації (FR)

Тривалість періоду (CL) і частота генерації (FR) є основними параметрами, що відображають часові та частотні аспекти серцевого ритму, створюваного клітинами САВ. Тривалість періоду позначає інтервал часу між початками послідовних ПД, тоді як частота генерації, яка є обернено пропорційною тривалості періоду, відображає частоту генерації ПД.

В оцінці кардіотоксичності відхилення в тривалості періоду та частоти генерації можуть бути індикаторами змін у функції клітин САВ під впливом кардіотоксичних препаратів. Такі відхилення можуть виникати внаслідок змін активності іонних каналів, концентрації іонів або інших клітинних механізмів. Скорочена тривалість періоду або підвищена частота генерації може свідчити про прискорену стимуляцію ритму, що потенційно може призвести до тахікардії.

І навпаки, подовжена тривалість періоду або зниження частоти генерації означає уповільнення генерації ПД, що може означати брадикардію.

Тривалість повільної деполяризації (PMD)

Тривалість повільної деполяризації (PMD) являє собою часовий інтервал, протягом якого мембранний потенціал клітин САВ повільно деполяризується від максимального діастолічного потенціалу (MDP) до порогового потенціалу (THR), ініціюючи ПД. Ця фаза є критичною, оскільки вона відповідає за інтервал між двома ПД.

Кардіотоксичні препарати можуть модулювати функцію або експресію іонних каналів, впливаючи на швидкість, з якою відбувається повільна деполяризація. Препарати, що впливають на натрій-кальцієвий насос або канали пейсмейкерного струму (If), потенційно можуть модулювати PMD, тим самим змінюючи стимулюючу активність клітин САВ. Тривала PMD може означати сповільнення швидкості спонтанної деполяризації, потенційно призводячи до зниження частоти серцевих скорочень або брадикардії. І навпаки, скорочена PMD може вказувати на прискорення швидкості спонтанної деполяризації, що може призвести до збільшення частоти серцевих скорочень або тахікардії.

Тривалість потенціалу дії (APD)

APD представляє проміжок часу від початку до завершення ПД, охоплюючи фази деполяризації, плато та реполяризації. З іншого боку, APD_{50} , APD_{70} і APD_{90} представляють час, який потрібний мембранному потенціалу для реполяризації до 50%, 70% і 90% від свого повного значення (APA).

В оцінці кардіотоксичності ці параметри дозволяють отримати детальне уявлення про динаміку реполяризації клітин САВ під впливом потенційних кардіотоксичних препаратів. Змінений APD може вказувати на модуляцію активності іонних каналів, особливо тих каналів, які беруть участь у процесі реполяризації, таких як калієві канали. Ключові відмінності між APD, APD_{50} , APD_{70} і APD_{90} полягають у ступені реполяризації, яку вони представляють. В той

час як APD охоплює всю тривалість ПД, APD_{50} , APD_{70} і APD_{90} забезпечують більш сегментоване уявлення про процес реполяризації. Ці варіанти тривалостей дозволяють детально проаналізувати ранню, середню та пізню фази реполяризації.

Кардіотоксичні препарати, які впливають на функцію калієвих каналів, потенційно можуть змінити APD, тим самим впливаючи на процес реполяризації. Оцінка цих параметрів може з'ясувати потенційні кардіотоксичні ефекти на різних фазах реполяризації, допомагаючи визначити конкретні етапи, на яких кардіотоксичні препарати здійснюють свій вплив. Різниця між APD_{90} і APD_{70} , позначена як APD_{90-70} , забезпечує специфічний показник фази пізньої реполяризації.

4.4 Аналіз параметрів потенціалів дії з різними концентраціями препарату DMSO на кардіотоксичність

Набір даних для аналізу включав сигнали ПП, які було записано за допомогою системи μ ECG, мікрофлюїдної платформи для моніторингу електрофізіології серцевих клітин [51]. Було записано вплив різних концентрацій препаратів диметилсульфоксиду (DMSO) та Sotalol на ПП кардіоміоцити, отримані з іПСК. Сигнали для групи, яка отримувала DMSO, були зареєстровані за допомогою 2 каналів, в той час як кожен канал реєстрував 7 сигналів: один з контрольної групи і 6 з різними концентраціями DMSO (від 0,1 до 0,6%). Набір даних для Sotalol містив 1 сигнал контрольної групи та 6 сигналів з різними концентраціями препарату (1, 3, 7,5, 15, 30 та 60 нМ), але кожен запис було отримано з 1 електроду.

Для автоматизації процесу аналізу параметрів ПД та ПП під впливом різних концентрацій препаратів було розроблено програмне забезпечення в середовищі MATLAB. Основна мета цього програмного забезпечення – обробити сигнали ПП, розрахувати ключові параметри ПД та їх статистичні показники, і зберегти результати в зручному для подальшого аналізу форматі.

Вхідними даними для програми є:

1. Масив значень ПП, отриманих за допомогою мікроелектродних систем. Кожен запис відповідає певній концентрації досліджуваного препарату.
2. Параметри системи, такі як частота дискретизації, кількість каналів запису сигналів та концентрації досліджуваних препаратів.
3. Параметри для реконструкції ПД, такі як провідність позаклітинного середовища, відстані між електродами та клітинами, ємність мембрани клітини, початковий мембранний потенціал.

На першому етапі роботи алгоритму виконується попередня обробка сигналів. Це включає фільтрацію для видалення шумів та артефактів. Для фільтрації застосовано комплексний метод на основі комбінації методу власних підпросторів та вейвлет-згасування.

Далі виконується сегментація сигналів на окремі періоди ПП. Для цього використовуються методи виявлення піків та порогова фільтрація. Алгоритм автоматично визначає початок і кінець кожного ПП, а також тривалість періоду між сусідніми ПП.

Після сегментації сигналів на окремі періоди ПП, наступним кроком є реконструкція ПД на основі встановлених вхідних параметрів, таких як провідність позаклітинного середовища, відстані між електродами та клітинами, ємність мембрани клітини та початковий мембранний потенціал. Реконструкція ПД дозволяє отримати більш детальну інформацію про електрофізіологічні процеси в кардіоміоцитах та є важливим етапом в аналізі впливу препаратів на серцеві клітини.

Після реконструкції ПД програма виконує обчислення ключових параметрів як для РПД, так і для вихідних ПП. Розраховуються такі показники, як тривалість потенціалу дії (APD), тривалість фази реполяризації (APD), амплітуда (APA), швидкість деполяризації (MUV), швидкість реполяризації (MRR) та інші (табл. 4.2). Розрахунок параметрів виконується за відповідними математичними формулами. Наприклад, тривалість потенціалу дії (APD) обчислюється як:

$$APD = t_{MDP2} - t_{THR},$$

де t_{MDP2} – момент часу досягнення максимального діастолічного потенціалу в кінці ПД, а t_{THR} – момент часу досягнення порогового потенціалу на початку ПД.

Варто зазначити, що параметри, розраховані для РПД, позначаються як RAPD (reconstructed action potential duration), щоб відрізнити їх від параметрів, отриманих безпосередньо з ПД.

Окрім абсолютних значень параметрів, програма також обчислює їх статистичні показники – середнє значення та середньоквадратичне відхилення. Це дозволяє оцінити варіабельність параметрів ПП та РПД під впливом різних концентрацій препаратів.

Результати роботи алгоритму зберігаються у вигляді структури даних *cell array* в MATLAB. Кожен елемент масиву відповідає окремому запису ПП і містить обчислені значення параметрів та їх статистику. Розроблене програмне забезпечення було протестоване на сигналах ПП, зареєстрованих під впливом препаратів DMSO з різними концентраціями, як показано на рис. 4.3.

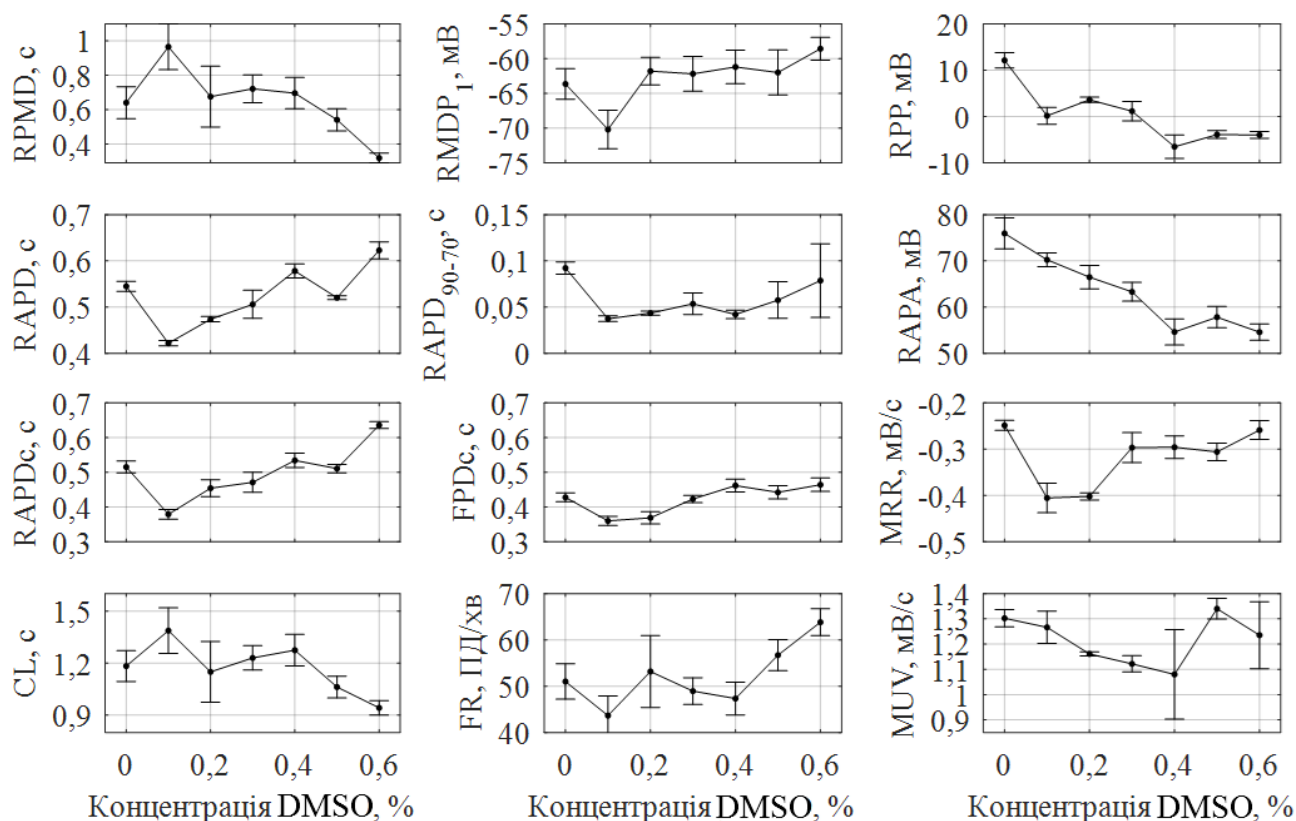


Рис. 4.3 Значення параметрів ПД та ПП за різних концентрацій DMSO

Завдяки автоматизації всіх етапів обробки сигналів та обчислення параметрів, дослідник може проаналізувати великі обсяги даних за короткий час. Це особливо важливо для високопродуктивного скринінгу потенційної кардіотоксичності нових препаратів.

В той же час, слід зазначити деякі обмеження поточної версії програмного забезпечення. Зокрема, воно розраховане на роботу з сигналами ПП, зареєстрованими з використанням конкретної апаратної платформи (система μ ECG). Для адаптації до інших форматів даних може знадобитися модифікація коду. Крім того, алгоритм сегментації ПП може потребувати додаткового налаштування при наявності значних артефактів у сигналі.

Іншим напрямком розвитку програмного забезпечення є інтеграція алгоритмів автоматичної класифікації сигналів за рівнем кардіотоксичності. Використовуючи розраховані параметри ПД як вхідні ознаки, можна навчити модель машинного навчання прогнозувати ризик кардіотоксичності різних концентрацій препарату.

4.5 Класифікація позаклітинних потенціалів за допомогою методу машинного навчання

Алгоритм k-найближчих сусідів (k-NN) — це непараметричний метод керованого навчання, який використовується для класифікації та регресії. Для класифікації метод k-NN працює на основі подібності — він класифікує точку даних за схожістю відносно інших точки з тренувального набору даних [90].

У разі досліджень ПП клітин серця з різними концентраціями препаратів, алгоритм k-NN є актуальним для класифікації ризику кардіотоксичності. Кожен період сигналу ПП представлено як точку в багатовимірному просторі ознак, де кількість вимірів відповідає кількості параметрів, таких як тривалість або амплітуда потенціалу. Завдання класифікації полягає в тому, щоб визначити, чи потрапляє ПП, що характеризується параметром або групою параметрів до класів «низького» чи «високого» ризику кардіотоксичності на основі його близькості до

визначених прикладів у просторі ознак.

Алгоритм k-NN працює за простим, але ефективним принципом: він класифікує дані на основі їхньої близькості до "k" найближчих сусідів. Ця близькість визначається за допомогою метрики відстані, вибір якої може суттєво вплинути на k-NN модель, особливо враховуючи характер ознак у наборі даних.

Найпоширенішою метрикою відстані є евклідова відстань, яка підходить для неперервних змінних і випадків, коли всі ознаки вносять однаковий внесок в обчислення відстані. Однак, в залежності від типу даних інші метрики можуть бути більш доречними. Наприклад, Манхеттенська відстань більше підходить для сітчастих структур даних, оскільки обчислює суму абсолютних різниць їхніх координат. Для наборів даних, де розбіжність у масштабах ознак може спотворити розрахунок відстані, відстань Мінковського забезпечує більш узагальнений підхід, охоплюючи як евклідову, так і Манхеттенську відстань як окремі випадки.

Іншим важливим аспектом алгоритму k-NN є концепція зваженого голосування. У стандартному k-NN кожен з "k" сусідів робить рівний внесок у класифікацію. Однак, це не завжди правильно, особливо коли деякі сусіди знаходяться значно ближче до точки, ніж інші. Зважене голосування вирішує цю проблему шляхом присвоєння різної ваги сусідам, як правило, на основі їхньої відстані до точки, що потребує класифікації. Такий підхід гарантує, що ближчі сусіди мають більший вплив на результат класифікації. Цей метод може бути особливо ефективним у наборах даних, де близькість сильно натякає на схожість – характеристика, яка може бути особливо важливою в контексті ПП серцевих клітин, де незначні зміни в близькості можуть вказувати на значні відмінності в групах ризику кардіотоксичності.

Ефективність моделей оцінюється за допомогою різних метрик точності – коефіцієнту помилок, макро влучності, макро повнотою та макро F1-міри.

Коефіцієнт помилок розраховується як відношення кількості неправильно передбачених спостережень до загальної кількості спостережень у валідаційній

вибірці:

$$\text{Error Rate} = \frac{\text{FP} + \text{FN}}{\text{TP} + \text{TN} + \text{FP} + \text{FN}},$$

де TP – істинно позитивні, TN – істинно негативні, FP – хибно позитивні, FN – хибно негативні спостереження.

Макро влучність розраховується шляхом усереднення влучності для кожного класу. Влучність для кожного класу – це відношення правильно визначених позитивних спостережень до загальної кількості всіх позитивних результатів (як істинних, так і хибних) для цього класу:

$$\text{Macro Precision} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \text{Precision}_i,$$

де N – кількість класів та $\text{Precision}_i = \frac{\text{TP}_i}{\text{TP}_i + \text{FP}_i}$.

Макро повнота – це середня повнота, розрахована окремо для кожного класу. Повнота для кожного класу – це відношення правильно визначених позитивних спостережень до загальної кількості всіх фактично позитивних спостережень (як істинно позитивних так і хибно негативних) для цього класу:

$$\text{Macro Recall} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \text{Recall}_i,$$

де $\text{Recall}_i = \frac{\text{TP}_i}{\text{TP}_i + \text{FN}_i}$.

Макро F1-міра – це середнє гармонійне значення влучності та повноти, вона обчислює, скільки разів модель зробила правильний прогноз на всій валідаційній вибірці. Макро F1-міра усереднює всі F1-міри для кожного окремого класу:

$$\text{Macro F1-score} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \text{F1}_i,$$

$$\text{де } F1\text{-score}_i = 2 \cdot \frac{\text{Recall}_i \times \text{Precision}_i}{\text{Recall}_i + \text{Precision}_i}.$$

Високі значення повноти вказують на здатність моделей правильно ідентифікувати справжні спостереження певного класу, що є критичним для оцінки кардіотоксичності, де наявність хибно негативних спостережень може мати серйозні наслідки. З іншого боку, значення влучності відображають ефективність моделей у точному віднесенні спостережень до відповідних класів, забезпечуючи надійність прогнозів і мінімізуючи ризик хибних прогнозів.

4.6 Групи ризику кардіотоксичності препаратів DMSO та Sotalol

Кожен параметр, виміряний в електрофізіологічних дослідженнях серця, має значення для оцінки серцевої діяльності та потенційної кардіотоксичності. У роботі DMSO досліджували з використанням параметрів як ПП, так і ПД, таких як мембранний потенціал спокою, APA, APD та скоригований FPD (FPD_c) за формулою Фредеріки:

$$FPD_c = \frac{FPD}{ISI^{1/3}},$$

де ISI (англ. inter spike interval) – це час між піками послідовних ПП.

Дослідження [91] показало, що концентрації DMSO понад 1% призводять до значних змін цих електрофізіологічних параметрів, а при концентрації 0,3% DMSO як в ПД, так і в ПП реєструвалися аномальні зміни морфологій.

У роботі [92] оцінка кардіотоксичності Sotalol була зосереджена головним чином на FPD та морфології сигналів. Дослідження показало, що зі збільшенням концентрації Sotalol подовжується пік хвилі реполяризації, що відповідає подовженню зубця Т на ЕКГ. Подовження хвилі реполяризації (або подовження зубця Т) свідчить про зміни в процесі реполяризації серця. Подовжена реполяризація може призводити до аритмій і є критичним фактором при оцінці медикаментозного подовження QT інтервалу, який є добре відомим маркером

кардіотоксичності. Також було відзначено, що точка зміщення FPD залишалася подібною при різних концентраціях Sotalol. Це спостереження свідчить про те, що хоча Sotalol впливає на тривалість реполяризації, він не змінює суттєво загальну тривалість циклу серцевого ПД. Ці висновки вказують на те, що FPD є важливим параметром для оцінки кардіотоксичності Sotalol.

Поділ на групи "високого ризику" та "низького ризику" кардіотоксичності DMSO було досягнуто шляхом використання порогових значень для тривалостей FPD_c, RAPD (англ. RAP duration; тривалість РПД) та їхніх варіабельностей STV (англ. Short Term Variability), встановлених за критеріями кардіотоксичності для різних концентрацій препаратів [93].

$$STV_{FPD} = \frac{1}{N\sqrt{2}} \sum_{i=1}^N |FPD_{i+1} - FPD_i|,$$

де FPD_i представляє FPD *i*-го з N+1 послідовних періодів, з яких складається сигнал.

Записи, які демонстрували значні відхилення від контрольної групи, такі як значне подовження або скорочення FPD_c або RAPD ($\pm 10\%$), або значну варіабельність між наступними значеннями ($\pm 90\%$), були віднесені до групи "високого ризику". І навпаки, записи з параметрами в межах нормальних діапазонів були віднесені до групи "низького ризику".

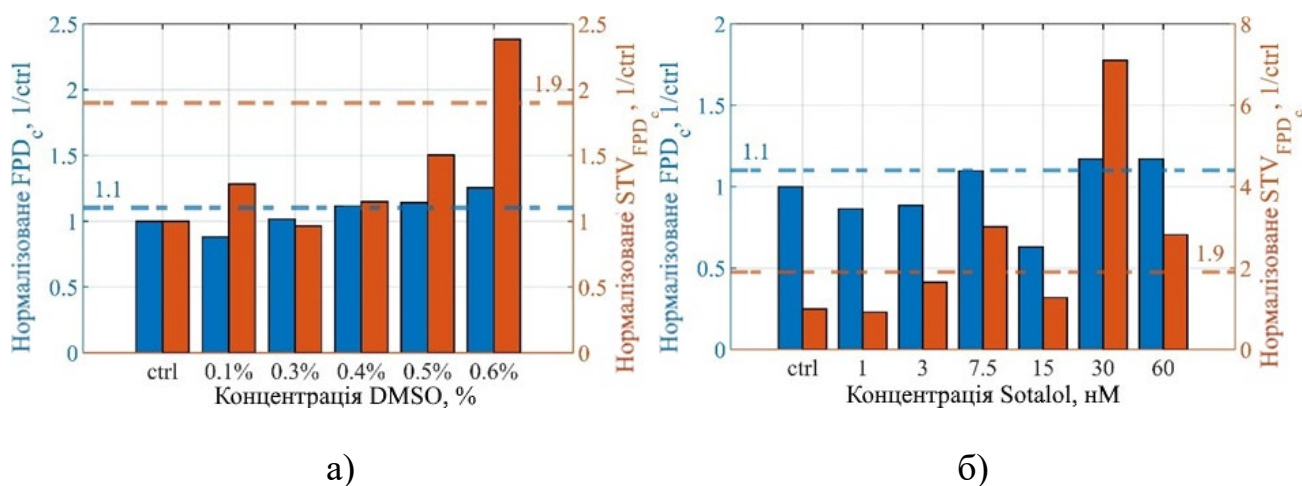


Рис. 4.4 Залежність FPD_c та STV_{FPDc} від концентрацій препарату DMSO (а) та Sotalol (б); нормалізоване FPD_c – нормоване відносно контрольного значення ctrl

На рис. 4.4а показано розподіл DMSO на групи ризику кардіотоксичності на основі нормалізованих порогових значень FPD_c та STV_{FPD_c} . Хоч DMSO широко відомий як нетоксична сполука [94], але отримані результати показують, що при найвищій наявній концентрації 0,6%, коли FPD_c та STV_{FPD_c} перетинають порогові значення, морфологія ПП містить зміни, які можуть бути маркером кардіотоксичності. З іншого боку, Sotalol є відомим антиаритмічним засобом [95], його застосовують для лікування різних типів серцевих аритмій, таких як фібриляція передсердь та шлуночкова тахікардія, але його здатність подовжувати інтервал QT у високих дозах може підвищувати ризик потенційно небезпечної для життя аритмії "torsades de pointes"; крім того, як бета-блокатор, Sotalol може мати й інші наслідки, такі як брадикардія. Порівняння даних FPD_c і STV_{FPD_c} для Sotalol на рис. 4.4б показує, що і FPD_c , і STV_{FPD_c} перетинають поріг ризику кардіотоксичності при найвищих концентраціях препарату 30 і 60 нМ.

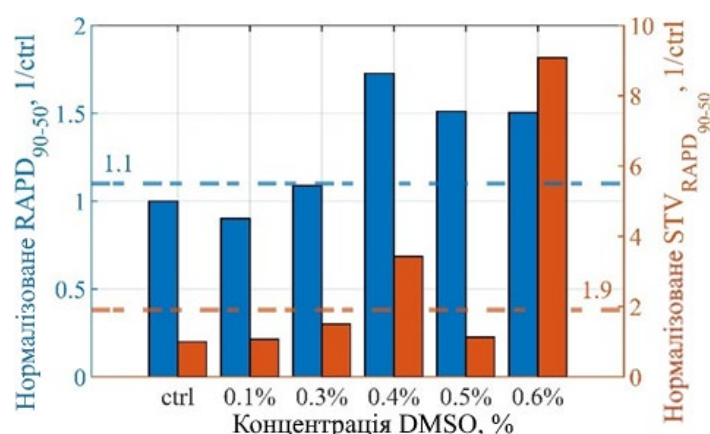


Рис. 4.5 Залежність $RAPD_{90-50}$ та $STV_{RAPD_{90-50}}$ від концентрації препарату DMSO

Реконструкція ПД із записів ПП під впливом сполуки DMSO дозволила визначити такі параметри, як $RAPD_{50}$, $RAPD_{70}$, $RAPD_{90}$ та їхні різниці $RAPD_{90-50}$ та $RAPD_{90-70}$, що дало змогу додатково оцінити вплив DMSO на електричну активність клітин серця. Рис. 4.5 доповнює рис. 4.4а інформацією про тривалість пізньої фази РПД від 50 до 90% реполяризації.

4.7 Класифікація позаклітинних потенціалів за концентраціями препаратів DMSO та Sotalol

Для класифікації позаклітинних потенціалів за концентраціями препаратів DMSO та Sotalol з різними комбінаціями ознак було проведено оцінку ефективності моделей k-найближчих сусідів (k-NN) (рис. 4.6а та 4.6б) [16]. Метрики оцінки включали коефіцієнт помилок, макро влучність, макро повноту і макро F1-міру. Результати класифікації за концентраціями DMSO та Sotalol з використанням різних комбінацій ознак наведено в табл. 4.3 та табл. 4.4, відповідно.

Таблиця 4.3 Показники точності 5-кратної перехресної валідації моделі k-NN для класифікації концентрації DMSO з використанням різних комбінацій ознак

Ознаки	Коефіцієнт помилок	Макро влучність	Макро повнота	Макро F1-міра
FPD	0.4657	0.4213	0.5353	0.4713
ISI	0.5176	0.5316	0.4817	0.5053
RAPD ₉₀₋₅₀	0.3265	0.7062	0.6742	0.6896
FPD, ISI	0.2029	0.7996	0.7952	0.7974
FPD, RAPD ₉₀₋₅₀	0.1176	0.8834	0.8817	0.8825
ISI, RAPD ₉₀₋₅₀	0.151	0.8595	0.8494	0.8544
FPD, ISI, RAPD ₉₀₋₅₀	0.0961	0.906	0.9045	0.9052

Таблиця 4. 4. Показники точності 5-кратної перехресної валідації моделі k-NN для класифікації концентрації Sotalol з використанням різних комбінацій ознак

Ознаки	Коефіцієнт помилок	Макро влучність	Макро повнота	Макро F1-міра
FPA	0.2945	0.6887	0.7084	0.6982
FPD	0.2233	0.7768	0.7496	0.7626
ISI	0.384	0.6236	0.6189	0.6212
FPA, FPD	0.0758	0.92	0.922	0.9208
FPA, ISI	0.1566	0.8626	0.8508	0.8566
FPD, ISI	0.1699	0.8343	0.8236	0.8289
FPA, FPD, ISI	0.0671	0.9475	0.9287	0.9379

Для класифікації концентрації DMSO кількість сусідів $k = 15$, а для класифікації концентрації Sotalol $k = 8$. Значення k було обрано на основі розміру набору даних. Для розрахунку

Для класифікації концентрації DMSO було обрано параметр $RAPD_{90-50}$ тому що він показав найвищу точність серед інших тривалостей RAPD. Набір даних був збалансований для рівного представлення всіх класів. Модель було перевірено за допомогою 5-кратної перехресної та міжканальної валідацій. Під час міжканальної валідації модель навчалася на наборі даних з першого каналу з використанням 5-кратної перехресної валідації, а потім кожна складова була перевірена окремо на наборі даних з другого каналу.

Для класифікації концентрації Sotalol ПД не реконструювався через відсутність записів з другого каналу, тому для класифікації було використано лише ознаки ПП.

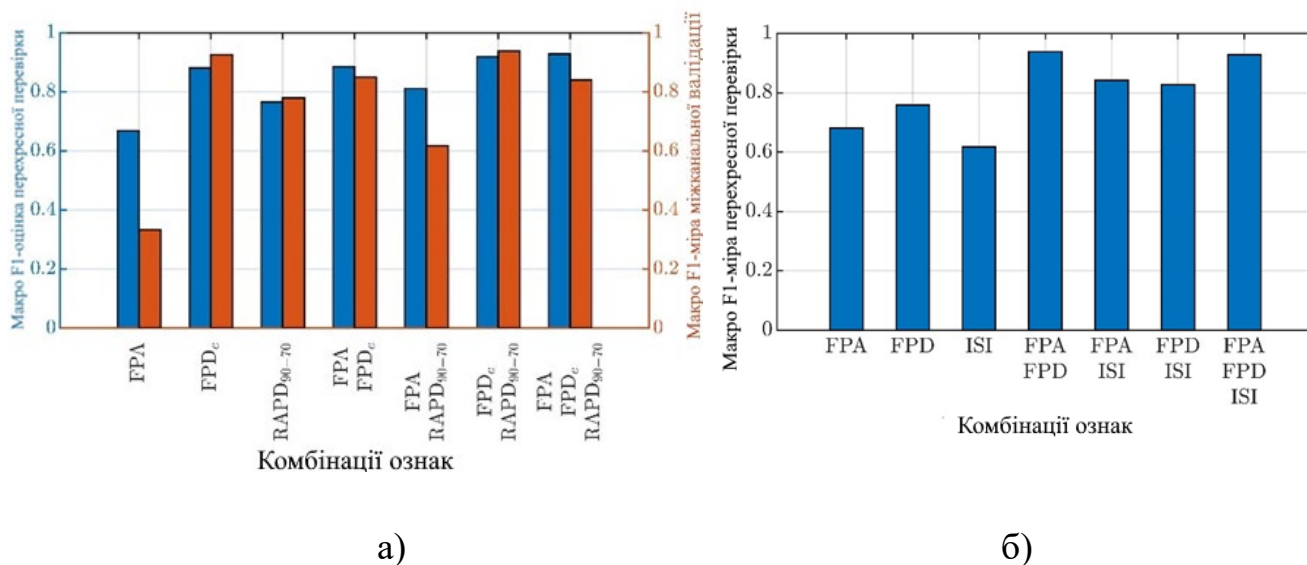


Рис. 4.6 F1-міра k-NN моделей з різними комбінаціями параметрів для класифікації концентрацій DMSO (а) та Sotalol (б)

4.8 Класифікація позаклітинних потенціалів за групами ризику кардіотоксичності препаратів DMSO та Sotalol

Для класифікації ризику кардіотоксичності класи були сформовані з використанням порогових значень параметрів FPD_c та $RAPD_{90-50}$ з рис. 4.4а та

рис. 4.5. Найвища концентрація DMSO (0,6%) була позначена як така, що має високий ризик кардіотоксичності, тоді як решта сигналів були позначені як такі, що мають низький ризик кардіотоксичності. Набір даних було збалансовано за допомогою стратифікованої перехресної валідації для представлення всіх варіацій ознак сигналів з різною концентрацією DMSO. Кількість сусідів $k = 11$ було обрано відповідно до розміру набору даних. Модель було перевірено за допомогою стратифікованої 5-кратної перехресної та міжканальної валідацій. В якості метрики відстані для класифікації було обрано Евклідову відстань, адже вона мала найкращі показники під час застосування у інших дослідженнях по класифікації електрофізіологічних сигналів [96].

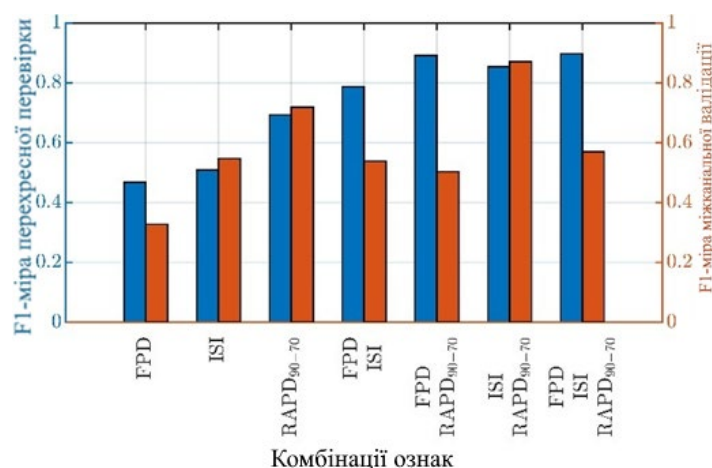


Рис. 4.6 F1-міра k-NN моделей з різними комбінаціями параметрів для класифікації ризику кардіотоксичності DMSO

4.9 Оцінка класифікуючих моделей

Моделі k-NN демонструють високі показники точності при класифікації концентрації препаратів та ризику кардіотоксичності. Для класифікації концентрації препаратів збільшення кількості ознак призводить до підвищення точності класифікації. Деякі ознаки, такі як RAPD₉₀₋₇₀ (рис. 4.6), особливо добре розрізняють різні концентрації препаратів, комбінації з такими ознаками призводять до підвищення точності. Інші ознаки, такі як FPA, можуть значно відрізнятися в різних ПП, тому, хоча k-кратна перехресна валідація і може

показати хороші показники точності, показники точності міжканальної валідації показують, що такі ознаки можуть мати негативний вплив на узагальнюваність моделі (рис. 4.6).

Відмінності між значеннями RAPD, такими як $RAPD_{90-70}$, підкреслюють специфічні сегменти РПД, кожен з яких корелює з переважаючими іонними струмами. Наприклад, інтервал $RAPD_{90-70}$ використовується для кількісної оцінки модуляції струмів I_{Kr} та I_{Ks} . Якщо фармацевтична дія препарату не спрямована на ці струми, то варіація $RAPD_{90-70}$ може бути мінімальною. Отже, в таких випадках включення $RAPD_{90-70}$ в модель матиме обмежений вплив на підвищення її точності.

Хоча включення параметрів РПД забезпечує лише незначне збільшення показників точності для класифікації ризику кардіотоксичності DMSO, метрики точності для класифікації концентрації DMSO демонструють кращі результати порівняно з використанням лише характеристик ПП. Це може бути наслідком того, як РПД інтегрує інформацію про ПП, які були використані в реконструкції: оскільки РПД використовує як ПП з каналу 1, так і з каналу 2, міжканальна валідація може бути не кращим методом оцінки точності параметрів РПД.

Таблиця 4. 4. Метрики точності 5-кратної перехресної валідації моделі k-NN для класифікації ризику кардіотоксичності DMSO з використанням різних комбінацій ознак

Ознаки	Коефіцієнт помилок	Макро влучність	Макро повнота	Макро F1-міра
FPA	0.328	0.6802	0.6737	0.6769
FPD _c	0.12	0.8852	0.879	0.8821
$RAPD_{90-70}$	0.238	0.7774	0.7626	0.7699
FPA, FPD _c	0.12	0.8842	0.8807	0.8824
FPA, $RAPD_{90-70}$	0.186	0.8287	0.8139	0.8212
FPD _c , $RAPD_{90-70}$	0.094	0.9141	0.9095	0.9118
FPA, FPD _c , $RAPD_{90-70}$	0.064	0.9423	0.9356	0.9389

Висновки до розділу 4

У даному розділі було виконано наступне:

1. Порівняно різні методи знешумлення ПП: вейвлет знешумлення, метод власних підпросторів та запропонований комплексний метод знешумлення на основі їхньої комбінації, який показав кращі результати від окремого застосування цих методів.

2. ПД, реконструйовані з ПП, дозволяють проводити додатковий аналіз ризику кардіотоксичності, використовуючи параметри, визначені з реконструйованих сигналів. Це дозволяє отримувати додаткову інформацію в системах з МЕР, які можуть записувати виключно ПП.

3. Запропоновано підхід для розширення набору даних для машинного навчання та продемонстровано приклад класифікації ризику кардіотоксичності та концентрації препарату за допомогою методу k найближчих сусідів на основі параметрів ПП та РПД. Оцінка ефективності параметрів показала, що точність класифікації методом k -NN за концентраціями препарату або за групами ризику кардіотоксичності можна підвищити за рахунок додаткових параметрів, отриманих з РПД, у випадку коли вони є кращими маркерами кардіотоксичності, ніж параметри записаних ПП.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертації виконано теоретичне узагальнення і розв'язання наукової задачі математичної реконструкції ПД з ПП кардіоміоцитів як основи для вдосконалення методичного і алгоритмічного забезпечення мікроелектродних систем.

Основні результати дисертаційної роботи:

1. Розроблено метод реконструкції ПД кардіоміоцитів з їхніх ПП на основі теорії поля та схемотехнічної моделі клітинної мембрани, що дозволило визначити додаткові характеристики електричної активності кардіоміоцитів для оцінювання кардіотоксичності ліків в мікроелектродних системах. Запропонований метод ґрунтується на розв'язанні оберненої задачі взаємозв'язку між ПП на електродах та ПД серцевих клітин, які розглядаються як точкові джерела струму.
2. Розроблено методику визначення синхронних та асинхронних ПД популяцій клітин для систем з багатьма електродами, особливістю якої є можливість використання ПП з різних електродів для перевірки синхронності електричної активності кардіоміоцитів.
3. Вдосконалено модель паралельних провідностей для симуляції ПД клітин САВ людини шляхом узагальнення іонних струмів K, Na та Ca, що дозволяє зменшити кількість диференціальних рівнянь, спростити процес ідентифікації параметрів та моделювання електричної активності популяцій клітин у порівнянні з більш сучасними та високодеталізованими моделями, але зберегти форму ПД.
4. Розв'язано задачу ідентифікації відстаней між клітинами та електродами для одновимірного та двовимірного випадків в геометрії систем з мікроелектродними решітками, що дозволяє робити початкові припущення про місце розташування клітин та використовувати цю інформацію для реконструкції ПД з ПП.

5. Запропонований комплексний метод знешумлення ПД та ПП на основі комбінації вейвлет-перетворення та методу власних підпросторів дозволяє ефективніше обробляти сигнали за низьких SNR. Міра RRMSE між оригінальним сигналом без шуму та знешумленим сигналом за $SNR = 20$ дБ для вейвлет-перетворення та методу власних підпросторів дорівнювала 45.59% та 12.4%, відповідно, а для комплексного методу – 10.77%.
6. Розроблено підхід для розширення набору даних на основі параметрів ПП та РПД для класифікації ризику кардіотоксичності та концентрації препарату DMSO за допомогою методу машинного навчання k найближчих сусідів. Для класифікації ПП за концентрацією препарату, використання додаткових даних дозволяє підвищити точність класифікації (згідно показникам макро F1-міри) з 79% (за 2-ма ознаками ПП) до 90.5% (за 2-ма ознаками ПП та 1 ознакою РПД), а для класифікації ПП за низькою та високою групою ризику кардіотоксичності – з 88% (за 2-ма ознаками ПП) до 91% (за 2-ма ознаками ПП і 1 ознакою РПД).
7. Результати роботи за темою реконструкції ПД з ПП впроваджені в навчальному процесі на кафедрі електронної інженерії ФЕЛ НТУУ «КПІ ім. Ігоря Сікорського» в навчальному посібнику «Прикладна біофізика. Біоелектричні процеси. Лабораторний практикум» для студентів спеціальності 153 «Мікро- та наносистемна техніка», освітньої програми «Електронні мікро- і наносистеми та технології», 2022 р..

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1] Yu. I. Markov, «Актуальні аспекти токсикокардіології», *ЕМ*, вип. 18, вип. 2, с. 25–28, Квіт 2022, doi: 10.22141/2224-0586.18.2.2022.1469.
- [2] Z. V. Varga, P. Ferdinandy, L. Liaudet, i P. Pacher, «Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity», *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, вип. 309, вип. 9, с. H1453–H1467, Лис 2015, doi: 10.1152/ajpheart.00554.2015.
- [3] R. Shi *et al.*, «Contractility measurements for cardiotoxicity screening with ventricular myocardial slices of pigs», *Cardiovascular Research*, вип. 119, вип. 14, с. 2469–2481, Лис 2023, doi: 10.1093/cvr/cvad141.
- [4] J. Gao, C. Liao, S. Liu, T. Xia, i G. Jiang, «Nanotechnology: new opportunities for the development of patch-clamps», *J Nanobiotechnol*, вип. 19, вип. 1, с. 97, Груд 2021, doi: 10.1186/s12951-021-00841-4.
- [5] Y. Qu i H. M. Vargas, «Proarrhythmia Risk Assessment in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Using the Maestro MEA Platform», *Toxicol. Sci.*, вип. 147, вип. 1, с. 286–295, Вер 2015, doi: 10.1093/toxsci/kfv128.
- [6] Kussauer, David, i Lemcke, «hiPSCs Derived Cardiac Cells for Drug and Toxicity Screening and Disease Modeling: What Micro- Electrode-Array Analyses Can Tell Us», *Cells*, вип. 8, вип. 11, с. 1331, Жов 2019, doi: 10.3390/cells8111331.
- [7] A. S. Sharma, S. Ali, D. Sabarinathan, M. Murugavelu, H. Li, i Q. Chen, «Recent progress on graphene quantum dots-based fluorescence sensors for food safety and quality assessment applications», *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, вип. 20, вип. 6, с. 5765–5801, Лис 2021, doi: 10.1111/1541-4337.12834.
- [8] G. Iachetta, G. Melle, N. Colistra, F. Tantussi, F. De Angelis, i M. Dipalo, «Chronic cardiotoxicity assessment by cell optoporation on microelectrode arrays», *Pharmacology and Toxicology*, preprint, Чер 2022. doi: 10.1101/2022.06.20.496820.

- [9] H. B. Hayes *et al.*, «Novel method for action potential measurements from intact cardiac monolayers with multiwell microelectrode array technology», *Sci Rep*, вип. 9, вип. 1, с. 11893, Груд 2019, doi: 10.1038/s41598-019-48174-5.
- [10] B. X. E. Desbiolles, E. De Coulon, N. Maïno, A. Bertsch, S. Rohr, i P. Renaud, «Nanovolcano microelectrode arrays: toward long-term on-demand registration of transmembrane action potentials by controlled electroporation», *Microsyst Nanoeng*, вип. 6, вип. 1, с. 67, Сер 2020, doi: 10.1038/s41378-020-0178-7.
- [11] N. G. Ivanushkina, K. O. Ivanko, M. O. Shpotak, i Y. V. Prokopenko, «Solving the Inverse Problem of Relationship Between Action Potentials and Field Potentials in Cardiac Cells», *Visnyk NTUU KPI Seriia - Radiotekhnika Radioaparatabuduvannia*, вип. 85, с. 53–59, Чер 2021, doi: 10.20535/RADAP.2021.85.53-59.
- [12] Н. Г. Іванушкіна, К. О. Іванько, М. О. Шпотак, і Ю. В. Прокопенко, «Реконструкція потенціалів дії серцевих клітин з позаклітинних потенціалів поля», *Вісті вузів. Радіoeлектроніка*, вип. 65, вип. 7, с. 420–432, Лип 2022, doi: 10.20535/S0021347022090047.
- [13] M. Shpotak, N. Ivanushkina, K. Ivanko, i Y. Prokopenko, «A Model for Simulation of Human Sinoatrial Node Action Potential», в *2022 IEEE 41st International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*, Kyiv, Ukraine: IEEE, Жов 2022, с. 422–425. doi: 10.1109/ELNANO54667.2022.9927001.
- [14] М. О. Шпотак, Н. Г. Іванушкіна, і Ю. В. Прокопенко, «Реконструкція потенціалів дії серцевих клітин з позаклітинних потенціалів у системах з мікроелектродними решітками», в *Матеріали IV Міжнародної науково-технічної конференції «АВТОМАТИЗАЦІЯ, ЕЛЕКТРОНІКА, ІНФОРМАЦІЙНО-ВИМІРЮВАЛЬНІ ТЕХНОЛОГІЇ: ОСВІТА, НАУКА, ПРАКТИКА»*, Харків, Україна: Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», Лис 2022, с. 64–65. [Online]. Доступний у: <https://zenodo.org/records/7750728>

- [15] M. O. Shpotak, N. G. Ivanushkina, K. O. Ivanko, i Y. V. Prokopenko, «Estimation of Multiple Cardiac Cells' Action Potentials From Extracellular Field Potentials», *Visnyk NTUU KPI Serii A - Radiotekhnika Radioaparotobuduvannia*, вип. 93, с. 70–77, Бер 2023, doi: 10.20535/RADAP.2023.93.70-77.
- [16] M. O. Shpotak i N. G. Ivanushkina, «Application of k-Nearest Neighbors Method for Drug Concentration and Cardiotoxicity Classification Using Extracellular Field Potentials and Reconstructed Action Potentials of Cardiac Cells», *Miscrosystems, Electronics and Acoustics*, вип. 29, вип. 1, 2024, doi: 10.20535/2523-4455.me.295601.
- [17] I. Gussak, J. Litwin, R. Kleiman, S. Grisanti, i J. Morganroth, «Drug-induced cardiac toxicity: emphasizing the role of electrocardiography in clinical research and drug development», *Journal of Electrocardiology*, вип. 37, вип. 1, с. 19–24, Січ 2004, doi: 10.1016/j.jelectrocard.2003.11.003.
- [18] H. Holzgrefe *et al.*, «Preclinical QT safety assessment: Cross-species comparisons and human translation from an industry consortium», *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, вип. 69, вип. 1, с. 61–101, Січ 2014, doi: 10.1016/j.vascn.2013.05.004.
- [19] D. S. Park i G. I. Fishman, «The Cardiac Conduction System», *Circulation*, вип. 123, вип. 8, с. 904–915, Бер 2011, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.942284.
- [20] A. L. Wit, «Afterdepolarizations and triggered activity as a mechanism for clinical arrhythmias», *Pacing Clinical Electrophis*, вип. 41, вип. 8, с. 883–896, Сер 2018, doi: 10.1111/pace.13419.
- [21] W. Zareba, «Drug induced QT prolongation», *Cardiology Journal*, вип. 14, вип. 6, 2007.
- [22] G. Duncan *et al.*, «Drug-Mediated Shortening of Action Potentials in LQTS2 Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes», *Stem Cells and Development*, вип. 26, вип. 23, с. 1695–1705, Груд 2017, doi: 10.1089/scd.2017.0172.

- [23] B. Horváth *et al.*, «Late Sodium Current Inhibitors as Potential Antiarrhythmic Agents», *Front. Pharmacol.*, вип. 11, с. 413, Квіт 2020, doi: 10.3389/fphar.2020.00413.
- [24] L. G. J. Tertoolen, S. R. Braam, B. J. van Meer, R. Passier, i C. L. Mummery, «Interpretation of field potentials measured on a multi electrode array in pharmacological toxicity screening on primary and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes», *Biochemical and Biophysical Research Communications*, вип. 497, вип. 4, с. 1135–1141, Бер 2018, doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.151.
- [25] Z. Qu *et al.*, «Early afterdepolarizations in cardiac myocytes: beyond reduced repolarization reserve», *Cardiovascular Research*, вип. 99, вип. 1, с. 6–15, Лип 2013, doi: 10.1093/cvr/cvt104.
- [26] D. Sato, C. E. Clancy, i D. M. Bers, «Dynamics of sodium current mediated early afterdepolarizations», *Heliyon*, вип. 3, вип. 9, с. e00388, Бер 2017, doi: 10.1016/j.heliyon.2017.e00388.
- [27] K. Asakura *et al.*, «Improvement of acquisition and analysis methods in multi-electrode array experiments with iPS cell-derived cardiomyocytes», *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, вип. 75, с. 17–26, Бер 2015, doi: 10.1016/j.vascn.2015.04.002.
- [28] H. E. D. J. Ter Keurs i P. A. Boyden, «Calcium and Arrhythmogenesis», *Physiological Reviews*, вип. 87, вип. 2, с. 457–506, Квіт 2007, doi: 10.1152/physrev.00011.2006.
- [29] M. Lei, L. Wu, D. A. Terrar, i C. L.-H. Huang, «Modernized Classification of Cardiac Antiarrhythmic Drugs», *Circulation*, вип. 138, вип. 17, с. 1879–1896, Жов 2018, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035455.
- [30] T. M. Markman *et al.*, «Trends in Antiarrhythmic Drug Use Among Patients in the United States Between 2004 and 2016», *Circulation*, вип. 141, вип. 11, с. 937–939, Бер 2020, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044109.
- [31] M. D. Halbach, U. Egert, J. Hescheler, i K. Banach, «Estimation of Action

Potential Changes from Field Potential Recordings in Multicellular Mouse Cardiac Myocyte Cultures», *Cell Physiol Biochem*, с. 15.

- [32] E. E. Verheijck *et al.*, «Pacemaker Synchronization of Electrically Coupled Rabbit Sinoatrial Node Cells», *The Journal of General Physiology*, вип. 111, вип. 1, с. 95–112, Січ 1998, doi: 10.1085/jgp.111.1.95.
- [33] J. Ma *et al.*, «High purity human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: electrophysiological properties of action potentials and ionic currents», *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, вип. 301, вип. 5, с. H2006–H2017, Лис 2011, doi: 10.1152/ajpheart.00694.2011.
- [34] C. Gold, D. A. Henze, C. Koch, i G. Buzsáki, «On the Origin of the Extracellular Action Potential Waveform: A Modeling Study», *Journal of Neurophysiology*, вип. 95, вип. 5, с. 3113–3128, Трав 2006, doi: 10.1152/jn.00979.2005.
- [35] L. Servais i G. Cheron, «Purkinje cell rhythmicity and synchronicity during modulation of fast cerebellar oscillation», *Neuroscience*, вип. 134, вип. 4, с. 1247–1259, 2005, doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.06.001.
- [36] O. Fürst i N. D’Avanzo, «Isoform dependent regulation of human HCN channels by cholesterol», *Sci Rep*, вип. 5, вип. 1, с. 14270, Вер 2015, doi: 10.1038/srep14270.
- [37] L. A. Annecchino i S. R. Schultz, «Progress in automating patch clamp cellular physiology», *Brain and Neuroscience Advances*, вип. 2, с. 239821281877656, Січ 2018, doi: 10.1177/2398212818776561.
- [38] C. Thomasjr, P. Springer, G. Loeb, Y. Berwaldnetter, i L. Okun, «A miniature microelectrode array to monitor the bioelectric activity of cultured cells», *Experimental Cell Research*, вип. 74, вип. 1, с. 61–66, Вер 1972, doi: 10.1016/0014-4827(72)90481-8.
- [39] M. E. J. Obien, K. Deligkaris, T. Bullmann, D. J. Bakkum, i U. Frey, «Revealing neuronal function through microelectrode array recordings», *Front. Neurosci.*, вип. 8, Січ 2015, doi: 10.3389/fnins.2014.00423.

- [40] H. Zhu *et al.*, «Two dimensional electrophysiological characterization of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte system», *Sci Rep*, вип. 7, вип. 1, с. 43210, Бер 2017, doi: 10.1038/srep43210.
- [41] J. D. Lane, D. Montaigne, i A. Tinker, «Tissue-Level Cardiac Electrophysiology Studied in Murine Myocardium Using a Microelectrode Array: Autonomic and Thermal Modulation», *J Membrane Biol*, вип. 250, вип. 5, с. 471–481, Жов 2017, doi: 10.1007/s00232-017-9973-y.
- [42] A. Zwartsen, T. De Korte, P. Nacken, D. W. De Lange, R. H. S. Westerink, i L. Hondebrink, «Cardiotoxicity screening of illicit drugs and new psychoactive substances (NPS) in human iPSC-derived cardiomyocytes using microelectrode array (MEA) recordings», *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, вип. 136, с. 102–112, Лис 2019, doi: 10.1016/j.yjmcc.2019.09.007.
- [43] P. Wijdenes, C. Dalton, R. Armstrong, W. Zaidi, i N. I. Syed, «Development of a planar microelectrode array offering long-term, high-resolution neuronal recordings», в *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, June 7-12, 2015, Toronto, Canada*, вип. 51, D. A. Jaffray, Ред., в IFMBE Proceedings, vol. 51. , Cham: Springer International Publishing, 2015, с. 1173–1176. doi: 10.1007/978-3-319-19387-8_284.
- [44] G. Melle *et al.*, «Intracellular Recording of Human Cardiac Action Potentials on Market-Available Multielectrode Array Platforms», *Front. Bioeng. Biotechnol.*, вип. 8, с. 66, Лют 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.00066.
- [45] B. Ghane-Motlagh i M. Sawan, «Design and Implementation Challenges of Microelectrode Arrays: A Review», *MSA*, вип. 04, вип. 08, с. 483–495, 2013, doi: 10.4236/msa.2013.48059.
- [46] N. Zeng *et al.*, «A Wireless, Mechanically Flexible, 25 μ m-Thick, 65,536-Channel Subdural Surface Recording and Stimulating Microelectrode Array with Integrated Antennas», в *2023 IEEE Symposium on VLSI Technology and Circuits (VLSI Technology and Circuits)*, Kyoto, Japan: IEEE, Чер 2023, с. 1–2. doi:

10.23919/VLSITechnologyandCir57934.2023.10185321.

- [47] G. O’Leary *et al.*, «OpenMEA: Open-Source Microelectrode Array Platform for Bioelectronic Interfacing», *Bioengineering*, preprint, Лис 2022. doi: 10.1101/2022.11.11.516234.
- [48] S. Middy *et al.*, «Microelectrode Arrays for Simultaneous Electrophysiology and Advanced Optical Microscopy», *Advanced Science*, вип. 8, вип. 13, с. 2004434, Лип 2021, doi: 10.1002/advs.202004434.
- [49] G. Bruno *et al.*, «Microfluidic Multielectrode Arrays for Spatially Localized Drug Delivery and Electrical Recordings of Primary Neuronal Cultures», *Front. Bioeng. Biotechnol.*, вип. 8, с. 626, Чер 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.00626.
- [50] L. Ni, P. Кс, E. Mulvany, G. Zhang, i J. Zhe, «A microfluidic device for noninvasive cell electrical stimulation and extracellular field potential analysis», *Biomed Microdevices*, вип. 21, вип. 1, с. 20, Бер 2019, doi: 10.1007/s10544-019-0364-2.
- [51] R. Visone *et al.*, «Micro-electrode channel guide (μ ECG) technology: an online method for continuous electrical recording in a human beating heart-on-chip», *Biofabrication*, вип. 13, вип. 3, с. 035026, Лип 2021, doi: 10.1088/1758-5090/abe4c4.
- [52] D. Jäckel, U. Frey, M. Fiscella, F. Franke, i A. Hierlemann, «Applicability of independent component analysis on high-density microelectrode array recordings», *Journal of Neurophysiology*, вип. 108, вип. 1, с. 334–348, Лип 2012, doi: 10.1152/jn.01106.2011.
- [53] M. Q. Chen, R. H. Whittington, P. W. Day, B. K. Kobilka, L. Giovangrandi, i G. T. A. Kovacs, «A device for separated and reversible co-culture of cardiomyocytes», *Biotechnology Progress*, вип. 26, вип. 4, с. 1164–1171, Лип 2010, doi: 10.1002/btpr.431.
- [54] A. Hai, J. Shappir, i M. E. Spira, «In-cell recordings by extracellular microelectrodes», *Nat Methods*, вип. 7, вип. 3, с. 200–202, Бер 2010, doi:

10.1038/nmeth.1420.

- [55] R. Reigada i M. L. Fernandez, «Structure and electroporation of lipid bilayers: A Molecular Dynamics study», в *2011 XXXth URSI General Assembly and Scientific Symposium*, Istanbul: IEEE, Сер 2011, с. 1–4. doi: 10.1109/URSIGASS.2011.6051307.
- [56] D. Xu *et al.*, «Synchronized intracellular and extracellular recording of action potentials by three-dimensional nanoroded electroporation», *Biosensors and Bioelectronics*, вип. 192, с. 113501, Лис 2021, doi: 10.1016/j.bios.2021.113501.
- [57] A. Hai i M. E. Spira, «On-chip electroporation, membrane repair dynamics and transient in-cell recordings by arrays of gold mushroom-shaped microelectrodes», *Lab Chip*, вип. 12, вип. 16, с. 2865, 2012, doi: 10.1039/c2lc40091j.
- [58] H. Schneckenburger, «Laser-assisted optoporation of cells and tissues – a mini-review», *Biomed. Opt. Express*, вип. 10, вип. 6, с. 2883, Чер 2019, doi: 10.1364/BOE.10.002883.
- [59] R. Liu *et al.*, «Ultra-Sharp Nanowire Arrays Natively Permeate, Record, and Stimulate Intracellular Activity in Neuronal and Cardiac Networks», *Adv Funct Materials*, вип. 32, вип. 8, с. 2108378, Лют 2022, doi: 10.1002/adfm.202108378.
- [60] B. X. E. Desbiolles, E. De Coulon, A. Bertsch, S. Rohr, i P. Renaud, «Intracellular Recording of Cardiomyocyte Action Potentials with Nanopatterned Volcano-Shaped Microelectrode Arrays», *Nano Lett.*, вип. 19, вип. 9, с. 6173–6181, Бер 2019, doi: 10.1021/acs.nanolett.9b02209.
- [61] R. Plonsey i R. C. Barr, *Bioelectricity: a quantitative approach*, 3rd ed. New York, NY: Springer, 2007.
- [62] A. O. Grant, «Cardiac Ion Channels», *Circ: Arrhythmia and Electrophysiology*, вип. 2, вип. 2, с. 185–194, Квіт 2009, doi: 10.1161/CIRCEP.108.789081.
- [63] A. Arshad i A. J. Atkinson, «A 21st century view of the anatomy of the cardiac conduction system», *Translational Research in Anatomy*, вип. 28, с. 100204, Бер 2022, doi: 10.1016/j.tria.2022.100204.

- [64] F. Fenton i E. Cherry, «Models of cardiac cell», *Scholarpedia*, вип. 3, вип. 8, с. 1868, 2008, doi: 10.4249/scholarpedia.1868.
- [65] A. L. Hodgkin i A. F. Huxley, «Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*», *J Physiol*, вип. 116, вип. 4, с. 449–472, Квіт 1952, Дата звернення: 12, Березень 2024. [Online]. Доступний у: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1392213/>
- [66] D. Noble, «A modification of the Hodgkin—Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pacemaker potentials», *J Physiol*, вип. 160, вип. 2, с. 317–352, Лют 1962, Дата звернення: 12, Березень 2024. [Online]. Доступний у: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1359535/>
- [67] G. W. Beeler i H. Reuter, «Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres», *The Journal of Physiology*, вип. 268, вип. 1, с. 177–210, Чер 1977, doi: 10.1113/jphysiol.1977.sp011853.
- [68] C. H. Luo i Y. Rudy, «A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction», *Circ Res*, вип. 68, вип. 6, с. 1501–1526, Чер 1991, doi: 10.1161/01.res.68.6.1501.
- [69] K. H. W. J. ten Tusscher, D. Noble, P. J. Noble, i A. V. Panfilov, «A model for human ventricular tissue», *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, вип. 286, вип. 4, с. H1573–1589, Квіт 2004, doi: 10.1152/ajpheart.00794.2003.
- [70] T. O'Hara, L. Virág, A. Varró, i Y. Rudy, «Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential: Model Formulation and Experimental Validation», *PLOS Computational Biology*, вип. 7, вип. 5, с. e1002061, Трав 2011, doi: 10.1371/journal.pcbi.1002061.
- [71] F. Fenton i A. Karma, «Vortex dynamics in three-dimensional continuous myocardium with fiber rotation: Filament instability and fibrillation», *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, вип. 8, вип. 1, с. 20–47, Бер 1998, doi: 10.1063/1.166311.
- [72] L. G. Sal, J. P. Turiel, i J. C. F. Marinero, «Phenomenological Model of the

- Cardiac Propagation Process», в *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, September 7 - 12, 2009, Munich, Germany*, O. Dössel i W. C. Schlegel, Ред., в IFMBE Proceedings. Berlin, Heidelberg: Springer, 2010, с. 1822–1825. doi: 10.1007/978-3-642-03882-2_484.
- [73] J. Walmsley, G. R. Mirams, J. Pitt-Francis, B. Rodriguez, i K. Burrage, «Application of stochastic phenomenological modelling to cell-to-cell and beat-to-beat electrophysiological variability in cardiac tissue», *Journal of Theoretical Biology*, вип. 365, с. 325–336, Січ 2015, doi: 10.1016/j.jtbi.2014.10.029.
- [74] A. Fabbri, M. Fantini, R. Wilders, i S. Severi, «Computational analysis of the human sinus node action potential: model development and effects of mutations: Model of the human sinoatrial AP», *J Physiol*, вип. 595, вип. 7, с. 2365–2396, Квіт 2017, doi: 10.1113/JP273259.
- [75] K. Ivanko, N. Ivanushkina, i Y. Prokopenko, «Simulation of action potential in cardiomyocytes», в *2017 IEEE 37th International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*, Квіт 2017, с. 358–362. doi: 10.1109/ELNANO.2017.7939777.
- [76] G. Seemann, C. Höper, F. B. Sachse, O. Dössel, A. V. Holden, i H. Zhang, «Heterogeneous three-dimensional anatomical and electrophysiological model of human atria», *Phil. Trans. R. Soc. A.*, вип. 364, вип. 1843, с. 1465–1481, Чер 2006, doi: 10.1098/rsta.2006.1781.
- [77] A. O. Verkerk *et al.*, «Single Cells Isolated from Human Sinoatrial Node: Action Potentials and Numerical Reconstruction of Pacemaker Current», в *2007 29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Lyon, France: IEEE, Сер 2007, с. 904–907. doi: 10.1109/IEMBS.2007.4352437.
- [78] A. Pohl, A. Wachter, N. Hatam, i S. Leonhardt, «A computational model of a human single sinoatrial node cell», *Biomed. Phys. Eng. Express*, вип. 2, вип. 3, с. 035006, Квіт 2016, doi: 10.1088/2057-1976/2/3/035006.

- [79] N. Ivanushkina, K. Ivanko, Y. Prokopenko, A. Redaelli, V. Timofeyev, i M. Ivanushkina, «Approach for Cardiac Action Potential Detection from Noised Recordings», в *2019 IEEE 39th International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*, Kyiv, Ukraine: IEEE, Квіт 2019, с. 530–535. doi: 10.1109/ELNANO.2019.8783603.
- [80] X. Li, R. Zhang, B. Zhao, C. Lossin, i Z. Cao, «Cardiotoxicity screening: a review of rapid-throughput in vitro approaches», *Arch Toxicol*, вип. 90, вип. 8, с. 1803–1816, Сер 2016, doi: 10.1007/s00204-015-1651-1.
- [81] F. Remião, H. Carmo, F. Carvalho, i M. L. Bastos, «CARDIOTOXICITY STUDIES USING FRESHLY ISOLATED CALCIUM-TOLERANT CARDIOMYOCYTES FROM ADULT RAT», *inva*, вип. 37, вип. 1, с. 1–4, Січ 2001, doi: 10.1290/1071-2690(2001)037<0001:CSUFIC>2.0.CO;2.
- [82] «Microfluidic Cell Culture and Its Application in High-Throughput Drug Screening: Cardiotoxicity Assay for hERG Channels - Xiaojing Su, Edmond W. K. Young, Heather A. S. Underkofler, Timothy J. Kamp, Craig T. January, David J. Beebe, 2011». Дата звернення: 12, Березень 2024. [Online]. Доступний у: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/10870571110386218>
- [83] S. A. van Acker *et al.*, «Doxorubicin-induced cardiotoxicity monitored by ECG in freely moving mice. A new model to test potential protectors», *Cancer Chemother Pharmacol*, вип. 38, вип. 1, с. 95–101, 1996, doi: 10.1007/s002800050453.
- [84] J.-P. Couderc, M. Zhou, N. Sarapa, i W. Zareba, «Investigating the effect of sotalol on the repolarization intervals in healthy young individuals», *Journal of Electrocardiology*, вип. 41, вип. 6, с. 595–602, Лис 2008, doi: 10.1016/j.jelectrocard.2008.06.013.
- [85] L. Michel *et al.*, «Troponins and brain natriuretic peptides for the prediction of cardiotoxicity in cancer patients: a meta-analysis», *European Journal of Heart Failure*, вип. 22, вип. 2, с. 350–361, 2020, doi: 10.1002/ejhf.1631.
- [86] S. Deng i L. Wojnowski, «Genotyping the risk of anthracycline-induced

- cardiotoxicity», *Cardiovasc Toxicol*, вип. 7, вип. 2, с. 129–134, Чер 2007, doi: 10.1007/s12012-007-0024-2.
- [87] T. Kinoshita *et al.*, «Early electrocardiographic indices for predicting chronic doxorubicin-induced cardiotoxicity», *Journal of Cardiology*, вип. 77, вип. 4, с. 388–394, Квіт 2021, doi: 10.1016/j.jjcc.2020.10.007.
- [88] P. Mamoshina, B. Rodriguez, i A. Bueno-Orovio, «Toward a broader view of mechanisms of drug cardiotoxicity», *Cell Reports Medicine*, вип. 2, вип. 3, Бер 2021, doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100216.
- [89] C. Rickert i C. Proenza, «ParamAP: Standardized Parameterization of Sinoatrial Node Myocyte Action Potentials», *Biophysical Journal*, вип. 113, вип. 4, с. 765–769, Сер 2017, doi: 10.1016/j.bpj.2017.07.001.
- [90] K. Taunk, S. De, S. Verma, i A. Swetapadma, «A Brief Review of Nearest Neighbor Algorithm for Learning and Classification», в *2019 International Conference on Intelligent Computing and Control Systems (ICCS)*, Madurai, India: IEEE, Трав 2019, с. 1255–1260. doi: 10.1109/ICCS45141.2019.9065747.
- [91] S.-W. Hyun, B.-R. Kim, S.-A. Hyun, i J.-W. Seo, «The assessment of electrophysiological activity in human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes exposed to dimethyl sulfoxide and ethanol by manual patch clamp and multi-electrode array system», *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, вип. 87, с. 93–98, Бер 2017, doi: 10.1016/j.vascn.2017.03.003.
- [92] P. Pradhapan, J. Kuusela, J. Viik, K. Aalto-Setälä, i J. Hyttinen, «Cardiomyocyte MEA Data Analysis (CardioMDA) – A Novel Field Potential Data Analysis Software for Pluripotent Stem Cell Derived Cardiomyocytes», *PLoS ONE*, вип. 8, вип. 9, с. e73637, Бер 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0073637.
- [93] T. Kaneko *et al.*, «On-chip in vitro cell-network pre-clinical cardiac toxicity using spatiotemporal human cardiomyocyte measurement on a chip», *Sci Rep*, вип. 4, вип. 1, с. 4670, Квіт 2014, doi: 10.1038/srep04670.
- [94] S. W. Jacob i J. C. De La Torre, «Pharmacology of dimethyl sulfoxide in cardiac

- and CNS damage», *Pharmacological Reports*, вип. 61, вип. 2, с. 225–235, Бер 2009, doi: 10.1016/S1734-1140(09)70026-X.
- [95] N. Augustin, C. Alvarez, i J. Kluger, «The Arrhythmogenicity of Sotalol and its Role in Heart Failure: A Literature Review», *J Cardiovasc Pharmacol*, вип. 82, вип. 2, с. 86–92, Сер 2023, doi: 10.1097/FJC.0000000000001439.
- [96] I. Saini, D. Singh, i A. Khosla, «QRS detection using K-Nearest Neighbor algorithm (KNN) and evaluation on standard ECG databases», *Journal of Advanced Research*, вип. 4, вип. 4, с. 331–344, Лип 2013, doi: 10.1016/j.jare.2012.05.007.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А. Список публікацій здобувача за темою дисертації

Статті, в яких опубліковані основні результати дисертації:

- [1] N. G. Ivanushkina, K. O. Ivanko, M. O. Shpotak, i Y. V. Prokopenko, «Solving the Inverse Problem of Relationship Between Action Potentials and Field Potentials in Cardiac Cells», *Visnyk NTUU KPI Serii A - Radiotekhnika Radioaparotobuduvannia*, вип. 85, с. 53–59, Чер 2021, doi: 10.20535/RADAP.2021.85.53-59.

Відомості: публікація у фаховому виданні України за спеціальністю дисертації, у виданні проіндексованому у базі даних Web of Science, Q4.

Особистий внесок здобувача: математичне моделювання реконструкції ПД з ПП, розробка комплексного методу знешумлення ПП, порівняння ефективності знешумлення ПП методами власних підпросторів та за допомогою вейвлет-перетворення.

- [2] Н. Г. Іванушкіна, К. О. Іванько, М. О. Шпотак, і Ю. В. Прокопенко, «Реконструкція потенціалів дії серцевих клітин з позаклітинних потенціалів поля», *Вісті вузів. Радіoeлектроніка*, вип. 65, вип. 7, с. 420–432, Лип 2022, doi: 10.20535/S0021347022090047.

Відомості: публікація у фаховому виданні України за спеціальністю дисертації, у виданні проіндексованому у базі даних Scopus, Q3.

Особистий внесок здобувача: математичне моделювання реконструкції ПД з ПП для популяцій клітин, проведення статистичного аналізу реконструйованих ПД.

- [3] M. O. Shpotak, N. G. Ivanushkina, K. O. Ivanko, i Y. V. Prokopenko, «Estimation of Multiple Cardiac Cells' Action Potentials From Extracellular Field Potentials», *Visnyk NTUU KPI Serii A - Radiotekhnika Radioaparotobuduvannia*, вип. 93, с. 70–77, Вер 2023, doi: 10.20535/RADAP.2023.93.70-77.

Відомості: публікація у фаховому виданні України за спеціальністю дисертації, у виданні проіндексованому у базі даних Web of Science, Q4.

Особистий внесок здобувача: математичне моделювання реконструкції ПД з ПП для популяцій клітин, проведення статистичного аналізу реконструйованих ПД.

- [4] M. O. Shpotak i N. G. Ivanushkina, «Application of k-Nearest Neighbors Method for Drug Concentration and Cardiotoxicity Classification Using Extracellular Field Potentials and Reconstructed Action Potentials of Cardiac Cells», *Miscrosystems, Electronics and Acoustics*, вип. 29, вип. 1, 2024, doi: 10.20535/2523-4455.me.295601.

Відомості: публікація у фаховому виданні України за спеціальністю дисертації.

Особистий внесок здобувача: розробка підходу до класифікації ПП за концентраціями та групами ризику кардіотосичності препаратів, математичне моделювання, обробка даних та статистичний аналіз результатів класифікації.

Праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

- [1] M. Shpotak, N. Ivanushkina, K. Ivanko, i Y. Prokopenko, «A Model for Simulation of Human Sinoatrial Node Action Potential», в *2022 IEEE 41st International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*, Kyiv, Ukraine: IEEE, Жов 2022, с. 422–425. doi: 10.1109/ELNANO54667.2022.9927001.

Особистий внесок здобувача: вдосконалення моделі паралельних провідностей САВ серця людини, математичне моделювання, порівняння морфології ПД різних моделей.

- [2] М. О. Шпотак, Н. Г. Іванушкіна, і Ю. В. Прокопенко, «Реконструкція потенціалів дії серцевих клітин з позаклітинних потенціалів у системах з мікроелектродними решітками», в *Матеріали IV Міжнародної науково-технічної конференції «Автоматизація, електроніка, інформаційно-вимірвальні технології: освіта, наука, практика»*, Харків, Україна: НТУ «ХП», Лис 2022, с. 64–65. [Online]. Доступний у: <https://zenodo.org/records/7750728>

Особистий внесок здобувача: розробка методики реконструкції груп синхронних та асинхронних ПД, математичне моделювання.