

SECTION 4. MEDICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES: INNOVATIONS OF THE FUTURE

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-514-3-26>

***IN VIVO* ELECTROCARDIOGRAPHY IN ADULT *DANIO RERIO*: USING OF BENZOCAINE FOR ANESTHESIA**

***IN VIVO* ЕЛЕКТРОКАРДІОГРАФІЯ У ДОРОСЛИХ *DANIO RERIO*: ВИКОРИСТАННЯ БЕНЗОКАЇНУ ДЛЯ АНЕСТЕЗІЇ**

Shepeliev S. Ye.

*Candidate of Biological Sciences,
Associate Professor at the Department
of Biology,
Bogomolets National Medical
University
Kyiv, Ukraine*

Шепелєв С. Є.

*кандидат біологічних наук,
доцент кафедри біології,
Національний медичний університет
імені О. О. Богомольця
м. Київ, Україна*

Незважаючи на ґрунтовні морфологічні відмінності та значну філогенетичну віддаленість, електрофізіологічні властивості серця акваріумної риби *Danio rerio* та людини дуже схожі. Більшості генів, що кодують іонні канали та регуляторні білки серця людини, відповідають гомологічні гени у *Danio rerio*. Навпаки, серце людини та гризунів, найрозповсюдженіших об'єктів медико-біологічних досліджень, на електрофізіологічному рівні демонструють важливі функціональні відмінності [1]. Ці факти, а також невеликі розміри риби, її дешевизна, простота в утриманні та велика плодючість, роблять її надзвичайно перспективним об'єктом для вивчення фізіології та патології серця, бічної дії лікарських засобів та фармакологічному скринінгу. Електрокардіограма (ЕКГ) *Danio rerio* характеризується наявністю виразного зубця Р, комплексу QRS та зубця Т, кожний з яких можна порівняти з відповідними сигналами на ЕКГ людини [2]. Однак реєстрація ЕКГ *Danio rerio* досі не є загальнодоступною технікою, оскільки вимагає спеціалізованих пристроїв та програмного забезпечення, які в сукупності мають достатньо високу вартість [3]. Зважаючи на останнє, нами була розроблена власна електрофізіологічна установка для реєстрації *in vivo* ЕКГ *Danio rerio*. Для експериментів використовували дорослих самців та самок *Danio rerio* дикого типу, довжиною 3–4 см, придбаних у місцевого постачальника. Роботу з тваринами

проводили з дотриманням існуючих біоетичних норм та у відповідності до чинного законодавства. Наркотизовану рибу розміщували вверх черевною поверхнею у спеціально сконструйованій плексигласовій ванночці установки. Через внутрішньоротову канюлю зябра тварини постійно омивали оксигенованим розчином ЕЗ, що містив засіб для підтримання наркозу. Конструкція ванночки передбачала постійне омивання зазначеним розчином тієї частини тіла риби, яка була занурена у ванночку. Біполярне відведення ЕКГ здійснювалося за допомогою сталевих мікроелектродів, які занурювали в шкіру тварини на глибину близько 1 мм [4] за допомогою прецизійних мікроманіпуляторів. Конструкція установки передбачала можливість легкої зміни позиції мікроманіпуляторів відносно тіла тварини та вибору кута атаки електрода. Позиціонування мікроелектродів відносно тіла тварини здійснювали згідно існуючим рекомендаціям та критеріям [4]. В якості підсилювача сигналів використовували серійний електрокардіограф ЭК1Т-03М2, в конструкцію якого були внесені відповідні зміни, необхідні для здійснення біполярного відведення сигналів та інтеграції приладу з аналого-цифровим перетворювачем. За допомогою останнього сигнали оцифровували, після чого записували на жорсткий диск персонального комп'ютера. Оцифровані ЕКГ аналізували після завершення експерименту в інтерактивному режимі. Однією з умов успішної реєстрації ЕКГ риби є повне припинення м'язової активності останньої, що досягається шляхом використання місцевих анестетиків, засобів для наркозу або (та) міорелаксантів. Останнім часом більшість дослідницьких груп застосовує з цією метою трикаїна метансульфонат (MS-222) [4]. Зазначений препарат є структурним аналогом бензокаїну, але містить сульфатну групу, наявність якої забезпечує його кращу розчинність у воді, і використовується в якості спеціалізованого анестетика для таких тварин, як риби та амфібії [5]. В пошуках дешевого вітчизняного аналога MS-222 ми зупинили свій вибір на бензокаїні, який, за даними літератури, також застосовується для анестезії *Danio rerio* [6], але досі не використовувався при реєстрації ЕКГ. Зважаючи на погану розчинність у воді, анестетик розчиняли у 70% етанолі в концентрації 100 мг/мл з метою приготування матричного розчину [6]. Зазначений розчин в подальшому змішували як з водою, у якій розміщували риб для анестезії на початку експерименту, так і з розчином ЕЗ, яким омивали зябра тварин під час реєстрації ЕКГ. В наших умовах мінімальна кінцева концентрація бензокаїну, що забезпечувала ефективне знерухомлення тварин та надійну реєстрацію ЕКГ протягом тривалого (до 1 год.) часу, становила 0,008% (80 мг (0,8 мл матричного розчину) на 1 л води або розчину ЕЗ). Після завершення експерименту життєдіяльність тварин

в чистій окисненованій воді повністю відновлювалася. Отже, бензокаїн може бути рекомендованим в якості дешевого, доступного, ефективного та безпечного засобу для анестезії при реєстрації ЕКГ у *Danio rerio*.

Література:

1. Echeazarra L., Hortigón-Vinagre M. P., Casis O., Gallego M. Adult and Developing Zebrafish as Suitable Models for Cardiac Electrophysiology and Pathology in Research and Industry. *Front. Physiol.* 2021. Jan 13; 11:607860. doi: 10.3389/fphys.2020.607860. eCollection 2020.
2. Milan D.J., Jones I.L., Ellinor P.T., MacRae C.A. In vivo recording of adult zebrafish electrocardiogram and assessment of drug-induced QT prolongation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006. Jul; 291(1):H269–73. doi: 10.1152/ajpheart.00960.2005. Epub 2006 Feb 17.
3. Lin M. H., Chou H. C., Chen Y. F., Liu W., Lee C. C., Liu L. Y., Chuang Y. J. Development of a rapid and economic in vivo electrocardiogram platform for cardiovascular drug assay and electrophysiology research in adult zebrafish. *Sci. Rep.* 2018. Oct 30;8(1):15986. doi: 10.1038/s41598-018-33577-7.
4. Zhao Y., Yun M., Nguyen S.A., Tran M., Nguyen T. P. In Vivo Surface Electrocardiography for Adult Zebrafish. *J. Vis. Exp.* 2019. Aug 1; (150):10.3791/60011. doi: 10.3791/60011.
5. Ramlochansingh C., Branoner F., Chagnaud B..P., Straka H. Efficacy of Tricaine Methanesulfonate (MS-222) as an Anesthetic Agent for Blocking Sensory-Motor Responses in *Xenopus laevis* Tadpoles. *PLoS One.* 2014. Jul 1;9 (7):e101606. doi: 10.1371/journal.pone.0101606
6. Brenen M. W., Claire J. W., Karuna P., George E. S., Ronald Y. K. A Dynamic Anesthesia System for Long-Term Imaging in Adult Zebrafish. *Zebrafish.* 2017. Feb;14 (1):1–7. doi: 10.1089/zeb.2016.1289. Epub 2016 Jul 13.