

Данило Заводовський

Олександр Хома

Дмитро Ноздренко

Олександр Мотузюк

Василь Сорока

Аналіз силової відповіді ішемізованого *m. soleus* на стимуляційний сигнал, модульований за частотою

Досліджувалася силова відповідь м'яза при трикутній стимуляції тривалістю 4000 мс, із поступовим лінійним збільшенням частоти стимуляційних сигналів до 30 Гц за 2000 мс та подальшим, без попереднього утримання частоти лінійного зменшення повторюваності стимуляційних сигналів до 0 Гц за 2000 мс, зареєстровано значні відмінності в силових відповідях здорового та ішемізованого м'яза. В ішемізованих м'язах відзначено збільшення часу сумарної поодиноких м'язових скорочень при переході від зубчастого до гладенького тетанічного скорочення, часове зменшення фази лінійного утримання сили на ділянках максимальної частоти стимуляційного патерна, лінійне зменшення сумарної силової відповіді упродовж усіх зазначених періодів, за винятком крайніх ділянок силових кривих. Показано можливість оптимізувати аналіз силових кривих скорочення м'яза при ішемічній патології через порівняння динаміки змін характерних ділянок кривих, без прив'язки до їх абсолютних значень.

Ключові слова: скелетний м'яз, ішемія, сила скорочення.

Постановка наукової проблеми та її значення. Ішемія тканин організму людини – це поширена проблема в медичній практиці [3; 4]. Вона може виникати як ускладнення різних патологій, при травмах та як результат невдалих медичних маніпуляцій. Різні тканини й органи мають відмінну толерантність до ішемічного пошкодження. Період стійкості може тривати від декількох хвилин, наприклад, у нервовій тканині, до декількох діб, як у випадку кісткової тканини [1; 4; 5; 7]. Незважаючи на великі запаси пластичних речовин, м'язова тканина – одна з найменш стійких до ішемічного ураження [8]. Важкі пошкодження м'язових волокон виникають вже після чотирьох годин повної ішемії м'яза [1; 2; 4; 5]. Ступінь прояву ішемії в різних клінічних ситуаціях може суттєво різнитись, починаючи від легких регресій у функції окремих м'язів, і сягати рівня розвитку системних реакцій організму та навіть призводити до смерті постраждалого [7]. Ішемія може бути гострою, коли кровотік припиняється на тривалий час у межах великих обсягів тканини, хронічною, при якій рівень забезпечення тканини киснем і пластичними речовинами нижчий за фізіологічно необхідний, і функціональною, розвиваючись унаслідок фізичних навантажень.

Скелетні м'язи – приклад крайньої структурної спеціалізації для виконання вузьких завдань руху. Тому, очевидно, що внаслідок ішемії відбувається швидка регресія і кількісних, і якісних показників скоротливої функції м'яза [6], що виявили численні дослідження [6; 9].

Вивчення зміни якісних показників скорочення скелетних м'язів при ішемії може бути корисним при розробці методів діагностики уражень опорно-рухового апарату на ранніх і пізніх стадіях патології та в період реабілітації.

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Експерименти виконували на 12 дорослих щурах масою від 0,2 до 0,3 кг. Дослід тривав 8 годин, час гострої ішемії – 5 годин. При попередній підготовці до експерименту анестезію здійснювали внутрішньочеревним введенням нембуталу (40 мг/кг). При ішемізації м'язів робили розріз шкіри (L = 1,5–2,5 см) вздовж внутрішньої поверхні стегна та гомілки. Лігатурами перетягувалася гілка стегнової артерії та вени разом з іншими судинами, які перфорують стінку черевної порожнини, що забезпечують кровопостачання досліджуваного м'яза. Стандартна підготовка, поряд із зазначеними вище заходами, включала препарування й канюлювання лівої яремної вени (для введення фармпрепаратів і вимірювання тиску), трахеотомію, ламінектомію на рівні поперекового відділу спинного мозку. Камбалоподібний м'яз щура (*muscle soleus*) ретельно звільняли від навколишніх тканин, у дистальній частині здійснювали поперечний переріз сухожильної частини. Для підготовки до розподіленої стимуляції еферентів у сегментах L7-S перерізували вентральні корінці безпосередньо в місцях їхнього виходу зі спинного мозку.

Для формування командних сигналів використовували програмовані генератори сигналів спеціальної форми. Зовнішнє навантаження на ішемізований м'яз здійснювали за допомогою системи механостимулятора. Збурення навантаження проводили лінійним електромагнітним двигуном. Стимуляцію виконували електричними імпульсами прямокутної форми тривалістю 2 мс, сформованими за допомогою генератора імпульсів, керованого за допомогою АЦП, з використанням платинових електродів. Характеристики стимуляційного сигналу задавали програмно й передавали з комплексу АЦП-ЦАП на генератор.

У цій серії експериментів досліджувалися зміни сили скорочення muscle soleus у відповідь на стимуляційний сигнал трикутної форми з такими характеристиками: час лінійного наростання частоти сигналу – 2000 мс, час лінійного спаду частоти – 2000 мс, частота сигналу – 30 Гц.

Зміну сили вимірювали за допомогою чотирьох тензорезисторів, наклеєних із двох сторін на сталеву пластину та включених у мостову вимірювальну схему. Сигнали, сформовані вимірювальними пристроями, подавалися до відповідних реєстраторів та одночасно слугували сигналами зворотного зв'язку у двох незалежних контурах серворегулювання. Оптимальне настроювання параметрів кожного регулятора робилося при механічному навантаженні механостимулятора еластичним джгутом із жорсткістю близько 0,5 Н/мм. Постійні часу перехідних процесів в обох режимах сервоконтролю не перевищували 50–60 мс, власна податливість механостимулятора при його оптимальному настроюванні не перевищувала 2 мкН/мм.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 8.0.

Кожна з кривих, наведених на рисунках у нашій роботі, є результатом усереднення 12-ти аналогічних експериментів.

На рисунку 1 показано зміни сили скорочення нативного та ішемізованого muscles soleus під впливом модульованого стимуляційного сигналу.

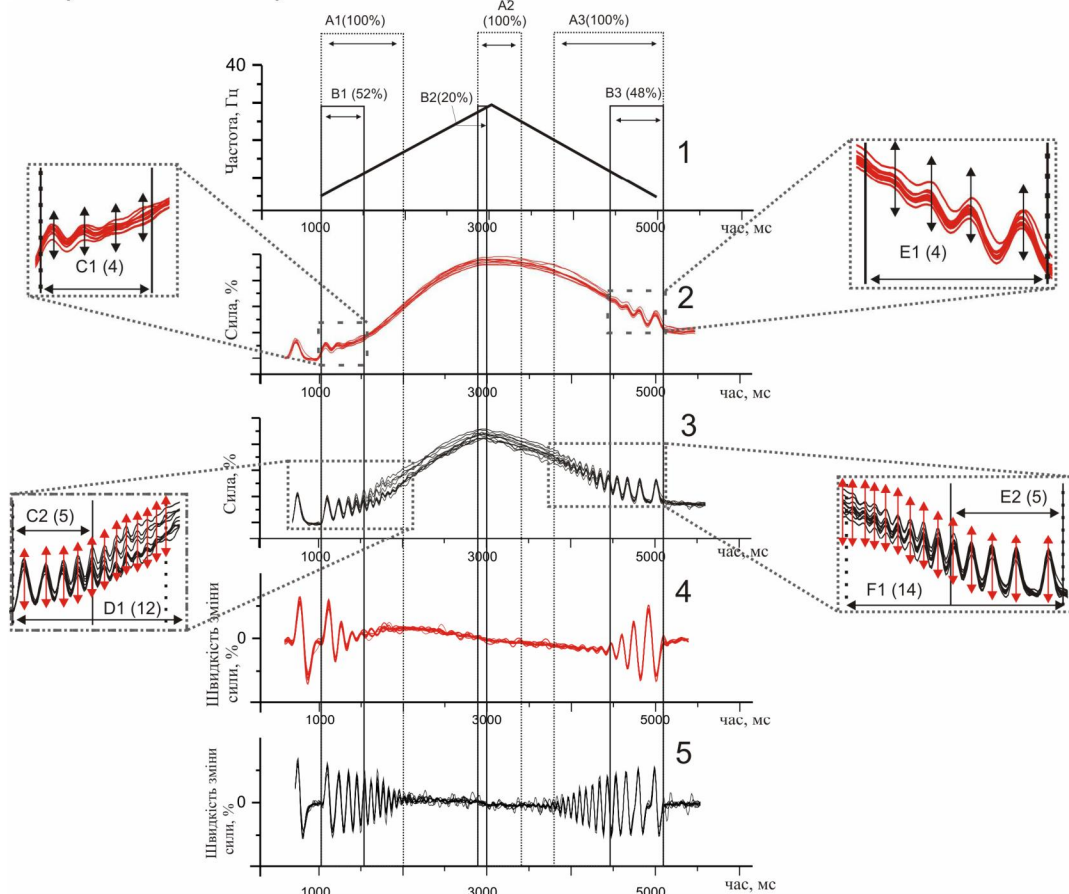


Рис. 1. Криві генерації сили ішемізованого м'яза при застосуванні модульованого стимуляційного сигналу трикутної форми. Вертикальними лініями вказані межі ділянок скорочення: 1 – стимуляційний сигнал; 2 – силові криві, генеровані здоровим м'язом; 3 – силові криві, генеровані ішемічно ушкодженими м'язами; 4, 5 – зміна швидкості зміни сили нативних на ішемізованих м'язів відповідно. Кожна з кривих є результатом усереднення 12-ти аналогічних експериментів. Інші позначення в тексті

В експериментальній групі на першій третині (B1) ділянки силової відповіді, яка відповідала лінійному збільшенню частоти стимуляційного сигналу, та на останній третині (B3) силової відповіді м'яза, що відповідала лінійному зменшенню частоти стимуляції, спостерігався чітко виражений зубчатий тетанус (рис. 1).

У контрольній групі максимальна сила скорочення м'яза відповідала часу генерації максимальної частоти стимуляційного пулу та тримала своє максимальне значення протягом 1000 мс до та після точки максимальної частоти подразнювального сигналу. В силовій відповіді ішемізованого м'яза спостерігалися зміни, порівняно з контролем. На фазі лінійного збільшення частоти стимуляції спостерігається зростання тривалості ділянки вираженості зубчастого тетанусу від 52 % (B1) у контрольній групі до 100 % (A1) у експериментальній. На фазі лінійного збільшення частоти стимуляції відмічено лінійне збільшення часу тривалості вираженості зубчастого тетанусу і зменшення силової продуктивності ішемізованого м'яза. На ділянці C2 експериментальної групи поряд із типовим тетанусом спостерігається поступове зниження сили, у той час як на відповідній ділянці контрольної групи сила залишається майже незмінною. Треба зазначити, що на ділянці B1 скоротливої відповіді ішемізованого м'яза зменшення сили не спостерігалось (рис. 2).

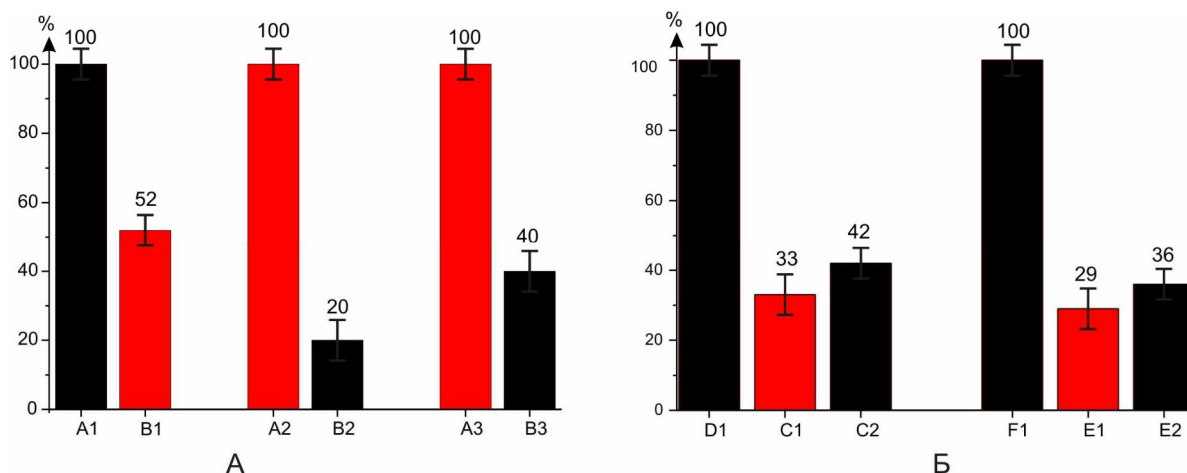


Рис. 2. Силова відповідь (%) на модульований стимуляційний сигнал на різних ділянках поодинокого ішемізованого (сірий колір) та нативного (чорний колір) скорочення м'язів: А – скорочення на ділянках збільшення частоти стимуляційного подразнення; Б – скорочення на ділянках зменшення частоти стимуляційного подразнення

Загальна кількість коливань зміни сили на фазі сумації поодиноких м'язових скорочень на фоні лінійного збільшення частоти стимуляції в експериментальній групі (ділянка D1) виявилася значно більшою (на 67 %) за їхню кількість у контролі (C1) (рис. 2Б). Водночас кількість піків зміни сили під час тривалості зубчастого тетанусу на фазі лінійного збільшення частоти стимуляції (C1) була на 9 % меншою порівняно з відповідною ділянкою в експерименті (C2).

На ділянках лінійного зменшення частоти стимуляції, як і на ділянках її лінійного збільшення, відмічено значне часове подовження фази сумації поодиноких м'язових скорочень, яка безпосередньо передує зубчастому тетанусу. Це особливо помітно на кривих, які відображають швидкість зміни сили (рис. 1 (4, 5)). Тривалість фази сумації поодиноких скорочень у контролі (E1) була на 71 % коротша за відповідну фазу в експериментальній групі (F1). В той час як кількість коливань силової відповіді на фазі лінійного зменшення частоти стимуляції за час тривалості сумації поодиноких скорочень у контролі (E1) на 7 % менша порівняно з відповідною ділянкою в експерименті (E2).

Для кращого аналізу зменшення м'язової сили при ішемічному ураженні ми проаналізували зміни кінематичних характеристик кожної окремої фази скорочення за цих умов. З огляду на перевагу, яку надає стимуляція трикутної форми, а саме наявності фаз поступового зростання, максимальної частоти та поступового її спаду, ми виділили три функціональні ділянки скорочення при аналізі змін силової продуктивності м'яза – Mf (рис. 3).

За ділянку – Mf1 (рис. 3) було взято ділянку на силових кривих, яка відповідає фазі переходу відповідної стимуляційної кривої із фази зростання до фази спадання частоти стимуляції ± 1000 мс. На ділянках силових кривих, відповідних за часом фазам спадання та зростання частоти стимуля-

ційного сигналу, було обрано ділянки для порівняння, до яких висувалися такі вимоги: а) вони мали розміщатися на ідентичних часових ділянках, відповідних стимуляційному сигналу; б) вони не мали міститися на ділянках кривої з чітко вираженим тремором, через неможливість адекватної оцінки змін на таких ділянках; в) зміни сили повинні були мати максимальну амплітуду, для точної візуалізації змін, необхідної для наступного аналізу. Тому на ділянках силових кривих (експерименту та контролю), що відповідали в часі кривій поступального зростання частоти стимуляції, були обрані сегменти Mf2 (на силовій кривій експерименту – Mf2a, на силовій кривій контролю – Mf2b) на фазі зростання сили, одразу за ділянкою зубчастого тетанусу тривалістю до початку фази Mf1, та ділянки Mf3 (на силовій кривій експериментальної групи – Mf3a, на силовій кривій контролю – Mf3b) на фазі зменшення сили скорочення, від закінчення фази Mf1 до часу виникнення зубчастого тетанусу.

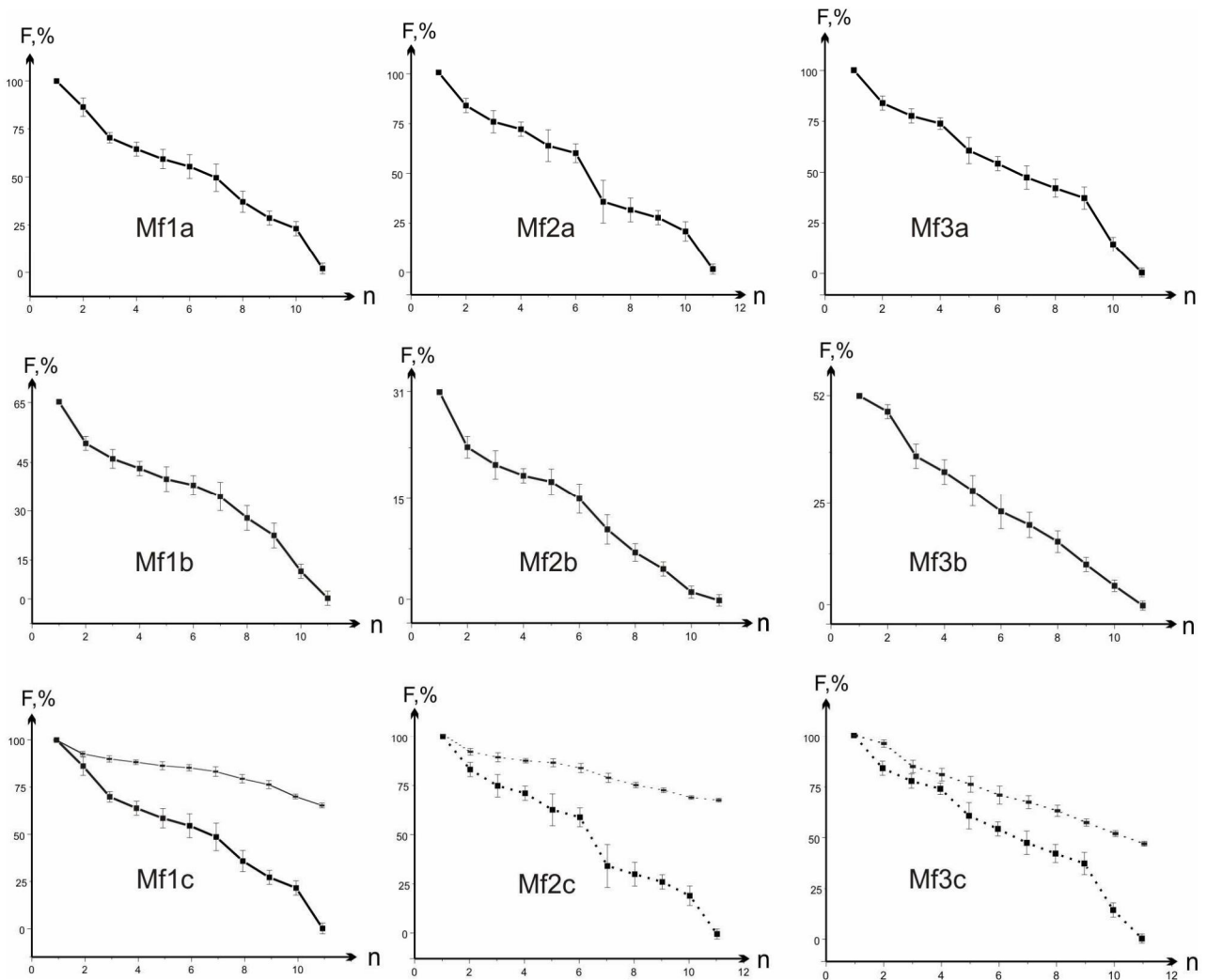


Рис. 3. Графіки зміни сили скорочення впродовж характеристичних ділянок Mf1, Mf2, Mf3 контрольної групи (графіки з індексом b), ішемізованого м'яза (графіки з індексом a) та взаємного їх накладення (графіки з індексом c)

Для якісного порівняння зміни сили скорочення на ділянках Mf1, Mf2, Mf3 при накладенні графіків за 100 % прийнято максимальну амплітуду зменшення сили скорочення, враховувалося зниження сили скорочення для відповідної пари (Mf1a та Mf1b, Mf2a та Mf2b, Mf3a та Mf3b). В графіках (Mf3c), (Mf2c), (Mf3c) аналізувались відповідно по два графіки (Mf1a) та (Mf1b), (Mf2a) та (Mf2b), (Mf3a) та (Mf3b).

Такий підхід для аналізу експериментальних даних показав, що особливостей у часовому перебігові зниження загальної силової продуктивності м'яза залежно від групи не спостерігалось. Проте накладення графіків виявило різницю у швидкості зменшення сили скорочення м'яза, яка проявлялася вже через кілька хвилин після ішемізації. У випадку періоду Mf1 різниця швидкостей становила

65 %, Mf2 – 31 %, Mf3 – 52 %, у всіх випадках швидкість зниження сили скорочення в експерименті була значно вищою за контрольні значення (рис. 3, 4). Отже, можна зазначити, що максимальне зменшення сили спостерігалось протягом фази Mf1. Водночас падіння сили на ділянці M12 було найменшим, а на ділянці Mf3 – 53 %, що, можливо, є наслідком розвитку м'язової втоми.

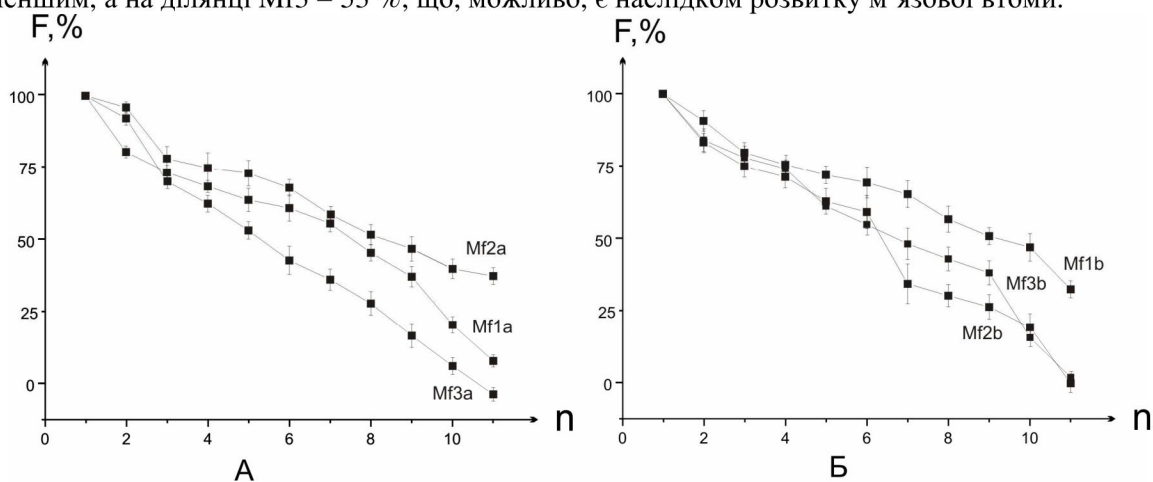


Рис. 4. Графіки зміни сили скорочення на фазах Mf1, Mf2, Mf3 контрольної (А) та експериментальної (Б) груп

Для порівняння загальних силових змін за 100 % було взято максимальну амплітуду сили скорочення. У контрольній групі (рис. 4А) падіння сили на ділянці Mf2a найменше, середні значення зафіксовано на ділянці Mf1a, у той же час на ділянці Mf3 знову виявлено значне зменшення силової відповіді, що може бути зумовлено початком розвитку втоми. Загальна формула різниці сил у контрольному м'язі матиме вигляд:

$$Mf3a > Mf1a > Mf2a.$$

При ішемізації м'яза (рис. 4Б) падіння сили на ділянці Mf1b найменше, на Mf2b та Mf3b воно має невеликі розбіжності, хоча і відрізняється за швидкістю зміни сили. Загальна формула різниці сил експериментального м'яза матиме вигляд:

$$Mf2b = Mf3b > Mf1b.$$

З урахуванням того, що в деяких випадках характер та рівень змін силової продуктивності ішемізованого та нативного м'язів були ідентичними (фаза Mf3), то доцільно провести зіставлення фаз Mf1 та Mf2, нівелювавши Mf3, проаналізувати на кожній з них швидкість зменшення сили (рис. 5).

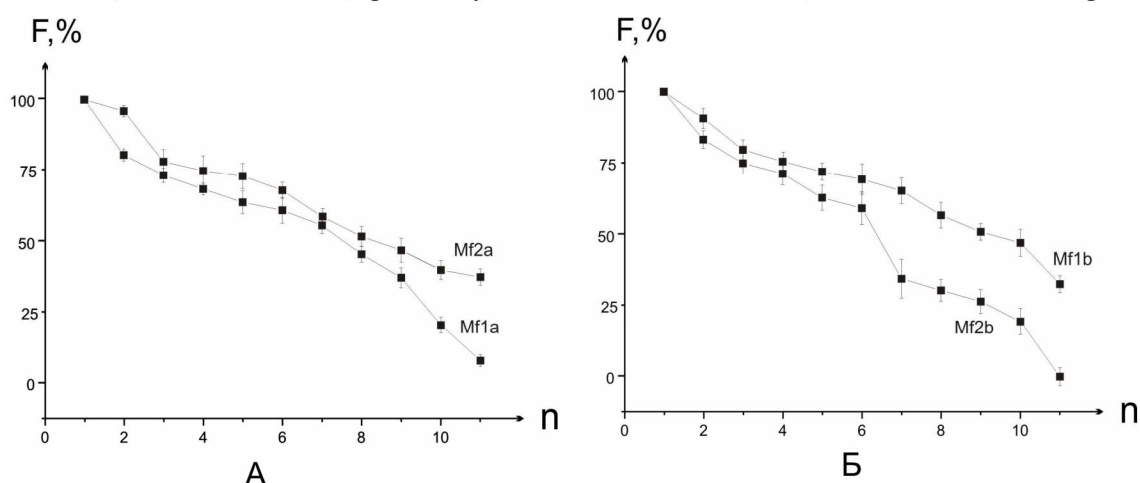


Рис. 5. Графіки порівняння розвитку втоми нативного (А) та ішемізованого м'язів (Б)

Взаємне розміщення кривих Mf1 та Mf2 відрізняються у контрольній та експериментальній групах (рис. 5). Більш виражені зміни в контролі були на фазі Mf1, у той час як в ішемізованого м'яза – на Mf2. Таке розміщення кривих і є найбільш наочним маркером змін сили ішемізованого м'яза.

Висновки. Отже, при трикутній стимуляції тривалістю 4000 мс, із поступовим лінійним збільшенням частоти стимуляційних сигналів до 30 Гц за 2000 мс та подальшим, без попереднього утримання частоти, лінійним зменшенням частоти стимуляційних сигналів, де 0 Гц за 2000 мс, спостережалося значні відмінності в силових відповідях нативного та ішемізованого м'язів. Основні з них такі:

1. Збільшення часу сумарної поодиноких м'язових скорочень при переході від зубчастого до гладенького тетанічного скорочення.
2. Часове зменшення фази лінійного утримання сили на ділянках максимальної частоти стимуляційного впливу.
3. Лінійне зменшення сумарної силової відповіді упродовж усіх зазначених періодів, за винятком крайніх ділянок силових кривих.
4. Показано можливість оптимізувати аналіз силових кривих скорочення м'яза при ішемічній патології способом порівняння динаміки змін характерних ділянок кривих, без прив'язки до їх абсолютних значень.

Джерела та література

1. Acute limb ischemia / J. Dormandy, L. Heeck, S. Vig et al. // *Semin. Vasc. Surg.* – 1999. – Vol. 12. – P. 148–153.
2. Barie P. S. Experimental methods in the pathogenesis of limb ischemia / P. S. Barie, R. J. Mullins // *J. Surg. Res.* – 1988. – Vol. 44. – P. 284–307.
3. Compartment syndrome in open tibial fractures / S. S. Blick, R. J. Brumback, A. Poka, A. R. Burgess // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 1996. – Vol. 68 – P. 1348–1353.
4. Ferrari R. Pathophysiological vs biochemical ischaemia: a key to transition from reversible to irreversible damage / R. Ferrari // *Eur. Heart. J. Supp.* – 2001. – Vol. 3. – P. C2–C10.
5. Grace P. A. Ischaemia-reperfusion injury / P. A. Grace // *Br. J. Surg.* – 1994. – Vol. 81. – P. 637–647.
6. Köstler W. Acute compartment syndrome of the limb / W. Köstler, P. C. Strohm, N. P. Südkamp // *Injury.* – 2004. – Vol. 35. – P. 1221–1227.
7. Metabolic response of skeletal muscle to ischemia / K. Harris, P. M. Walker, D. A. Mickle et al. // *Am. J. Physiol.* – 1986. – Vol. 20. – P. 213–220.
8. Studies of ischemia-reperfusion injury in skeletal muscle: efficacy of 21-aminosteroids on microcirculation and muscle contraction after an extended period of warm ischemia / A. V. Korompilias, L. E. Chen, A. V. Seaber, J. R. Urbaniak // *J. Orthop. Res.* – 1997. – Vol. 15. – P. 512–518.
9. Woitaske M. D. Effects of fiber type on ischemia-reperfusion injury in mouse skeletal muscle / M. D. Woitaske, R. J. McCarter // *Plast Reconstr Surg.* – 1998. – Vol. 102. – P. 2052–2063.

Заводовский Даниил, Хома Александр, Ноздренко Дмитрий, Мотузок Александр, Сорока Василий. **Анализ силового ответа ишемизированного m. soleus на стимуляционный сигнал, модулированный по частоте.** Исследовался силовой ответ мышцы на треугольный стимуляционный сигнал продолжительностью 4000 мс, с постепенным линейным увеличением частоты стимулирующих сигналов до 30 Гц с 2000 мс, и последующим, без предварительного удержания частоты линейного уменьшения повторения стимулирующих сигналов до 0 Гц за 2000 мс. Зарегистрированы значительные различия в силовых ответах здоровой и ишемизированной мышц. В ишемизированных мышцах зарегистрировано увеличение времени суммации одиночных мышечных сокращений при переходе от зубчатого к гладкому тетаническому сокращению, а также временное уменьшение фазы линейного удержания силы на участках максимальной частоты стимуляционного паттерна, линейное уменьшение суммарного силового ответа на протяжении всех указанных периодов, за исключением крайних участков силовых кривых. Показана возможность оптимизировать анализ силовых кривых сокращения мышцы при ишемической патологии путем сравнения динамики изменений характерных участков кривых, без привязки к их абсолютным значениям.

Ключевые слова: скелетная мышца, ишемия, сила сокращения.

Zavodovskiy Danylo, Khoma Oleksandr, Nozdrenko Dmytro, Motuzyuk Oleksandr, Soroka Vasyl. **Analysis of Ischemic m. soleus Force Response to Frequency Modulated Stimulation Pattern.** Aim: explore the changes of skeletal muscles contraction speed-force parameters after the artificially caused vascular ischemia and triangle-shaped frequency modulated stimulation. The dynamics of rat muscular fibers contraction after the artificially caused vascular ischemia was studied. Muscle force response upon triangle-shaped frequency modulated stimulation pattern with duration of 4000 ms, where frequency at first rose to 30 Hz for 2 seconds than decreased to 0 with the same period of time, was investigated. Major differences of ischemic muscle contraction relatively to control were revealed. Single contraction fusion period that preceded complete tetanus expended. Regression in time of the maximum force response period and force amplitude on all curve length except boundary segments demonstrated. Possibility for optimization of force graph analysis by comparison of changes in corresponding segments regardless to force magnitude changes postulated.

Key words: skeletal muscle, ischemia, contraction force.

Стаття надійшла до редколегії
25.04.2014 р.