

**АНАЛІЗ ІНТЕНСИВНОСТІ ЗМІН СИЛОВОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ
M. GASTROCNEMIUS У АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ ІЗ 6-ГОДИННОЮ
ВАСКУЛЯРНОЮ ІШЕМІЄЮ ЗАДНІХ КІНЦІВОК**

О. Мельничук*, О. Мотузюк, Т. Поручинська

*Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки
пр. Волі, 13, Луцьк 43025, Україна
e-mail: olexiytelnychuk@gmail.com*

У роботі аналізували інтенсивність змін силової продуктивності ішемізованого musculus gastrocnemius medialis в алкоголізованих щурів. Досліджувані щурі були розділені на 2 групи: неалкоголізовані (n=10) та алкоголізовані (n=10). Контрольна група складалась з інтактних тварин (n=10). Реєстрація тетанічного скорочення ізольованого м'яза здійснювалась в ізометричному режимі, за умов його безпосередньої електричної стимуляції. У досліджуваних групах щурів виявлене погіршення ефективності тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень і збільшення втрат тетанічної сили, порівняно з інтактними тваринами. Встановлено, що в алкоголізованих щурів, порівняно з неалкоголізованими, втрати тетанічної сили більші, а час досягнення піка тетанусу й індекс злиття достовірно не змінюються. Виявлені у досліджуваних групах щурів достовірні зміни індексу злиття вказують на погіршення потенціювання тетанічної сили індивідуальних м'язових скорочень у тетанусі ішемізованого м'яза, що є однією з передумов депресії його силової продуктивності й пов'язане з ішемією.

Ключові слова: васкулярна ішемія, алкогольна інтоксикація, силова продуктивність, сумачія м'язових скорочень, m. gastrocnemius.

Ішемічне ушкодження нижніх кінцівок (ІУНК) – це актуальна медико-соціальна проблема, яка в більшості клінічних випадків асоціюється з облітеруючими захворюваннями артерій нижніх кінцівок [4]. Попри те, що артеріальна оклюзія є серйозною клінічною проблемою [14] і найпоширенішою причиною ІУНК у клінічній практиці [39], до цього захворювання нерідко також призводять артеріальний тромбоз, емболія, травматичні розриви або ж зовнішнє стиснення [17]. Наслідком цих патологічних станів є гостра і хронічна ішемія тканин [41].

Зважаючи на це, особливу групу ризику становлять пацієнти з травматичними ушкодженнями нижніх кінцівок різного генезу, оскільки досить часто ішемія виникає в результаті ускладнення травми. Клінічні спостереження показали, що при травмах кінцівок у ДТП в 40–60% випадків ушкоджуються м'язи і судинно-нервові утворення [2]. При цьому повна оклюзія й ангіоспазм судин або ж їх зовнішня компресія діагностуються в 56,4 і 36,6% випадків, відповідно [42].

У цьому контексті алкоголь-залежні люди є групою підвищеного ризику щодо ймовірності отримання травм, які загрожують ІУНК, оскільки алкоголь – це важливий фактор травматизму [10]. Зокрема, досить часто ішемія виникає внаслідок позиційної компресії тканинних масивів нижніх кінцівок, яка розвивається при стисненні частини тіла (звичайно однієї з кінцівок) власною вагою постраждалого під час його тривалого перебування у вимушеному положенні [1, 24]. Найчастіше позиційний синдром

діагностують у пацієнтів, які зазнали дорожньо-транспортної катастрофи або перебували в непритомному стані, внаслідок побутових чи душевних травм, гострої алкогольної інтоксикації, отруєння вихлопним або чадним газом [1, 24].

Більшість сучасних досліджень механічних характеристик посмугованих скелетних м'язів під час ішемії, які здійснені на тваринних моделях, ґрунтуються на моделюванні васкулярної дисфункції, зазвичай обтурації просвіту судин. При цьому вплив факторів обтяження різної етіології залишається недослідженим. Необхідність комплексного дослідження ІУНК, обтяженого міотоксичним впливом алкоголю, зумовлена поширеністю алкоголізму, зокрема, серед осіб підліткового віку [47] та високою частотою алкоголь-асоційованого травматизму різної етіології [10, 24], який супроводжується стисненням великих м'язових масивів нижніх кінцівок із їх подальшим ішемічним ушкодженням [1, 28]. У цих умовах ІУНК обтяжуватиметься алкогольною міопатією, яка характеризується генералізацією атрофічного процесу в скелетних м'язах, незалежно від їх гістологічної структури [35].

Взаємообтяжуючий вплив цих патологічних процесів призводитиме до інтенсифікації дистрофічних змін і зниження життєздатності м'язової тканини, загрожуючи ранньою інвалідизацією, та ускладненням якості життя загалом, через неможливість вжити адекватних заходів щодо вибору оптимальної тактики лікування.

Мета цього дослідження – виявити алкоголь-асоційовані ознаки обтяження силової продуктивності ізольованого *m. gastrocnemius medialis* (MGM) в алкоголізованих щурів з експериментально-індукованою гострою васкулярною ішемією задніх кінцівок.

Матеріали та методи

Експерименти проводились на 30 5-місячних щурах-самцях лінії Wistar, яких утримували у стандартних умовах і на раціоні віварію. Щури-самці були обрані для експерименту з огляду на більший відсоток популяції швидких волокон в MGM [12], які найбільш чутливі до міотоксичних ефектів алкоголю [23, 35] та відносну резистентність самок щурів до токсичного впливу алкоголю [27]. Обраний віковий діапазон досліджуваної групи тварин, зумовлений градієнтом чутливості до метаболічних ефектів алкоголю [46].

Досліджувані тварини були розділені на 2 групи: група I – неалкоголізовані щури ($n=10$, $m=145,08\pm 6,99$ г), група II – алкоголізовані щури ($n=10$, $m=148,43\pm 11,08$ г). Контрольна група складалася з інтактних тварин ($n=10$, $m=150,83\pm 8,18$ г). Протокол експерименту був затверджений комісією з питань біоетики СНУ імені Лесі Українки, відповідно до правил "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 1986).

Дослідження проходило у два етапи: хронічний (30 днів) і гострий (6 год) експерименти. Усі процедури і хірургічні маніпуляції проводилися з дотриманням умов антисептики і асептики.

Тваринам із досліджуваної групи II для індукції хронічної алкогольної інтоксикації протягом 30 днів ентерогастрально вводили 40% етиловий спирт (отриманий шляхом розведення 96% етилового спирту ("БІО-ФАРМА ЛТД", Україна) дистильованою водою), з розрахунку 2 мл/100 г маси тіла тварини [5], використовуючи епідуральний катетр G 18 ("B Braun", Німеччина). Тварини з досліджуваної групи I аналогічним чином отримували еквівалентний об'єм дистильованої води. Контрольне зважування щурів з обох досліджуваних груп здійснювали один раз в тиждень, тижневий приріст маси становив $7,11\pm 1,34$ г.

Під час підготовки до гострого експерименту анестезію здійснювали підшкірним введенням тіопенталу натрію ("ARTERIUM", Україна). Ініціацію наркотичного сну тіопенталом натрію (0,04 мг/100 г, підтримуюча доза – 0,1 мг/100 г, швидкість введення – 5–10 мл/хв), здійснювали після попередньої премедикації 0,1% атропіном ("ДЗ ГНЦІС", Україна)

для запобігання ларинго- і бронхоспазму (0,1 мл за 30 хв перед ініціацією наркотичного сну). Евтаназію тварин здійснювали передозуванням анестетика (0,5 мг/100 г).

Унілатеральну 6-годинну васкулярну ішемію задніх кінцівок індукували шляхом оклюзії проксимального і дистального відділів а. femoralis поліамідними нитками Nurlon 2/0 ("Ethicon Inc", США). В алкоголізованих щурів ішемію індукували після закінчення хронічного експерименту. Провівши всі оперативні втручання, рану зашивали і дезінфікували 5%-ним спиртовим розчином йоду ("Виола", Україна).

Для тензометричного вимірювання силивої продуктивності м'яза ізольований препарат MGM розміщували в камері тензометричної установки з постійно циркулюючим ізотонічним фізіологічним розчином Тіроде: (H₂O – 100 мл, NaCl – 0,8 г, KCl – 0,02 г, CaCl₂ – 0,02 г, NaHCO₃ – 0,02 г, Na₂HPO₄ – 0,005 г, MgCl₂ – 0,01 г, Глюкоза – 0,1 г, O₂ – насичення, рН – 7.0) [6], при t – 37±1°C. Проксимальний сухожильний кінець MGM фіксували механічними затискачами нерухомо, дистальний – прикріплювали до силового перетворювача. Датчик сили був з'єднаний з підсилювачем і комплексом АЦП-ЦАП. Аналоговий сигнал від датчика сили надходив на 2-канальний аналого-цифровий перетворювач ("Iris USB-Oscilloscope", ТТ ОВ "Відео-Інтернет Технології" Україна), розрядністю 10 біт з частотою дискретизації 0,01 Гц – 200 кГц. Вихідна сила відображалась на моніторі осцилографа. Діапазон амплітуди вхідних сигналів: 0–2 В, 2–20 В. Розмах шкали напруги вхідного сигналу 0,3–2 Вольт/екран. Похибка квантування – 0,0039 В.

Реєстрація тетанічного скорочення ізольованого MGM здійснювалась в ізометричних умовах при безпосередній електричній стимуляції м'яза через кутові платинові електроди, імпульсами прямокутної форми (тривалість – 0,1 мс, частота – 50 Гц, напруга – 2 В). Тривалість стимуляційного патерну становила 3 с, індіферентний період (період бездіяльності м'яза в інтервалах між стимуляційними патернами) – 5 хв, латентний період (час від початку стимуляції до першої механічної відповіді м'яза) – 0,12±0,001 мс.

Для характеристики силивої продуктивності MGM розраховували такі параметри (рис. 1): Ftet (Tetanic Force) – тетанічну силу, TP (Time to Peak) – час досягнення піка тетанічної сили (рис. 1, а), FuI (Fusion Index) – індекс злиття (рис. 1, б).

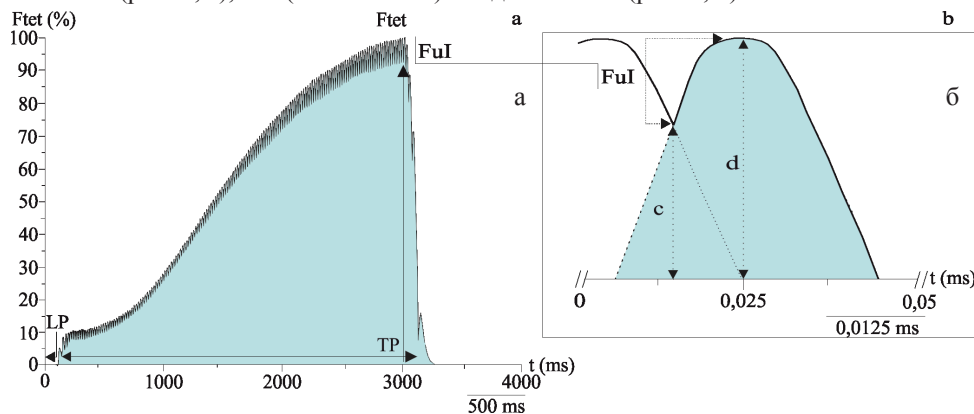


Рис. 1. Контракційні характеристики, вимірювані для тетанусу MGM (а): Ftet у % (Tetanic Force) – тетанічна сила, TP (Time to Peak) в с – час досягнення піка тетанічної сили, FuI (Fusion Index) – індекс злиття. LP (Latency Period) в мс – латентний період; спосіб розрахунку індексу злиття (б): с – амплітуда максимальної релаксації м'язового скорочення перед досягненням піка тетанусу, d – максимальна амплітуда м'язового скорочення після досягнення піка тетанусу.

Тетанічну силу (Ftet) у % розраховували як пікову тетанічну силу м'яза. За 100% тетанічної сили приймали максимальну висоту амплітуди тетанусу MGM у мВ, відносно

ізоляції в контрольній групі щурів. Реєстрація тетанічної сили MGM здійснювалась при початковій рівноважній довжині м'яза L.

Час досягнення піка тетанусу (TP) в с розраховували як інтервал часу від початку механічної відповіді м'яза на перший стимуляційний імпульс, до досягнення піка тетанусу.

Індекс злиття (FuI) [13] розраховували як відношення амплітуди максимальної релаксації м'язового скорочення перед досягненням піка тетанусу (с) до максимальної амплітуди м'язового скорочення після досягнення піка тетанусу (d) (рис. 1, б).

$$FuI = c / d$$

Індекс злиття розраховували для оцінки ефективності тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень. Ефективність тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень – це одна з детермінант вихідного рівня розвиненої скелетним м'язом тетанічної сили [26]. Тому даний параметр механічної активності м'яза дає змогу оцінити ефективність потенціювання тетанічної сили індивідуальних м'язових скорочень і виявити її зміни.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Statistica 8.0 (“StatSoft”, США). Перевірку вибірок на їхню приналежність до нормально розподілених генеральних сукупностей здійснювали за допомогою критерію Шапіро-Вілка. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами вибірок використовували U-критерій Манна-Вітні. Достовірними вважалися відмінності при $p \leq 0,05$. Результати представлені як середнє арифметичне \pm похибка середнього ($M \pm m$) і вказана кількість дослідів (n).

Результати і їхнє обговорення

Зазначається, що під час скорочення скелетних м'язів в умовах *in vivo* тетанічні скорочення моторних одиниць відносно добре зливаються [16, 26]. Це дає підстави стверджувати про залежність вихідної сили м'яза від ефективності тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень. У проведеному нами попередньому дослідженні [3] були виявлені незначні зміни індексу злиття в тетанусі ішемізованого MGM в алкоголізованих щурів, порівняно з неалкоголізованими щурами. Цей факт дав нам змогу висловити припущення щодо погіршення ефективності тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень ішемізованого м'яза як одного з ключових факторів депресії його силової продуктивності.

Тому аналіз інтенсивності змін силової продуктивності ішемізованого MGM у досліджуваних групах щурів ми розпочали з розрахунку індексу злиття (FuI) (табл. 1, рис. 2–3).

Таблиця 1

Зміна значень FuI в контролі й досліджуваних групах щурів ($M \pm m$, n=10)

TRS	Контроль (n=10)	Досліджувані групи щурів	
		Неалкоголізовані (n=10)	Алкохолізовані (n=10)
1	0,959 \pm 0,011	0,941 \pm 0,024	0,931 \pm 0,067
2	0,952 \pm 0,009	0,901 \pm 0,050 Δ	0,851 \pm 0,132 Δ
3	0,948 \pm 0,010	0,884 \pm 0,042 \blacktriangle	0,839 \pm 0,107 Δ
4	0,933 \pm 0,014	0,856 \pm 0,070 Δ	0,799 \pm 0,170 Δ
5	0,920 \pm 0,024	0,813 \pm 0,062 \blacktriangle	0,764 \pm 0,182 Δ
6	0,897 \pm 0,031	0,762 \pm 0,106 Δ	0,726 \pm 0,172 Δ
7	0,882 \pm 0,034	0,680 \pm 0,143 Δ	0,706 \pm 0,139 Δ
8	0,868 \pm 0,046	0,665 \pm 0,170 Δ	0,626 \pm 0,152 \blacktriangle
9	0,854 \pm 0,046	0,649 \pm 0,156 Δ	0,595 \pm 0,167 \blacktriangle
10	0,834 \pm 0,061	0,628 \pm 0,142 Δ	0,559 \pm 0,153 \blacktriangle
11	0,834 \pm 0,033	0,632 \pm 0,155 Δ	0,607 \pm 0,196 Δ
12	0,825 \pm 0,037	0,638 \pm 0,144 \blacktriangle	0,597 \pm 0,159 \blacktriangle

Примітки. FuI (Fusion Index) – індекс злиття. TRS (tetanic runs sequence) – послідовність тетанічних пробігів. Δ – ($p \leq 0,01$), \blacktriangle – ($p \leq 0,001$) у досліджуваних групах щурів, порівняно з контролем.

Проаналізувавши осцилограми 120 послідовних тетанусів у контролі й досліджуваних групах щурів, ми отримали достовірно менші значення FuI у неалкоголізованих і алкоголізованих щурів, порівняно з інтактними тваринами. Проте достовірних відмінностей FuI у алкоголізованих щурів, порівняно з неалкоголізованими, не виявлено.

У контролі протягом експерименту значення FuI зменшуються від початкових $0,95 \pm 0,01$ до $0,82 \pm 0,03$ в останньому тетанусі. У неалкоголізованих і алкоголізованих щурів діапазон зміни значень FuI більший: неалкоголізовані: $FuI = 0,94 \pm 0,02$ – $FuI = 0,64 \pm 0,14$, алкоголізовані: $FuI = 0,93 \pm 0,06$ – $FuI = 0,59 \pm 0,15$.

Слід зазначити, що достовірне зменшення значень FuI у досліджуваних групах щурів, порівняно з інтактними тваринами, виявлене протягом усього експерименту, окрім першого тетанусу. Ймовірно, це пов'язане з відсутністю ультраструктурних змін у м'язі, асоційованих з його механічною активністю, які відбуваються після першого тетанусу і призводять до помітного погіршення тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень у наступних тетанусах ішемізованого MGM упродовж експерименту.

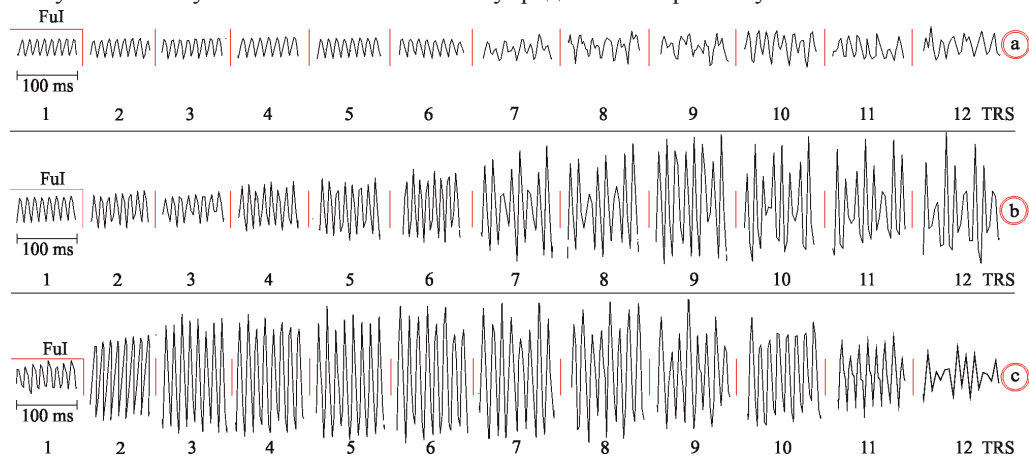


Рис. 2. Зміна ефективності тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень MGM протягом експерименту: а – інтактні тварини (n=10), б – неалкоголізовані щурі (n=10), с – алкоголізовані щурі (n=10). FuI (Fusion index) – індекс злиття. TRS (tetanic runs sequence) – послідовність тетанічних пробігів. Кожна з часових ділянок осцилограм тетанічного скорочення відображає середні зміни значень FuI, які представлені у табл. 1 в контролі й досліджуваних групах щурів.

Оскільки ефективність тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень одна з детермінант, яка визначає рівень вихідної сили м'яза, то ми проаналізували зміну тетанічної сили (Ftet) ішемізованого MGM у досліджуваних групах щурів протягом експерименту (рис. 3–4).

Ftet MGM в контролі, у другому тетанусі, становить $72,19 \pm 8,08\%$ від початкової. В даному випадку Ftet MGM зменшується на $28,43 \pm 7,95\%$. У неалкоголізованих щурів, у другому тетанусі $Ftet = 39,21 \pm 10,48\%$, ($p \leq 0,01$), а в алкоголізованих – $Ftet = 25,46 \pm 7,10\%$ ($p \leq 0,01$), порівняно з контролем. До середини експерименту, в контрольній групі щурів, м'яз втрачає $85,34 \pm 3,05\%$ початкової Ftet, у неалкоголізованих і алкоголізованих щурів ці значення становлять: $Ftet = 93,93 \pm 0,87\%$ та $Ftet = 86,46 \pm 3,06\%$, відповідно. Ці відмінності достовірні в алкоголізованих щурів, порівняно з контролем і неалкоголізованими щурами ($p \leq 0,001$). У кінці експерименту, в контрольній групі тварин, загальні втрати Ftet MGM становили $97,28 \pm 0,95\%$, а у неалкоголізованих і алкоголізованих щурів: $97,97 \pm 0,20\%$ і

95,98±0,60%, відповідно. Ці відмінності достовірні в досліджуваних групах шурів, порівняно з контролем ($p \leq 0,001$), та в алкоголізованих шурів, порівняно з неалкоголізованими ($p \leq 0,001$).

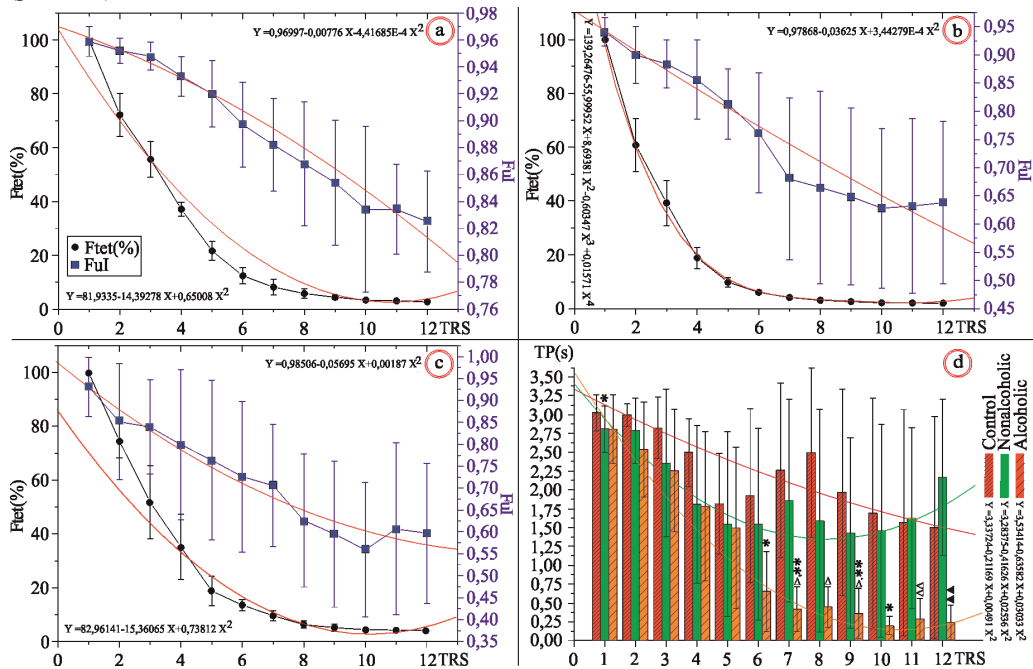


Рис. 3. Зміна FuI (Fusion Index) – індексу злиття й Ftet (Tetanic Force) (тетанічної сили), яка представлена як ізометрична сила м'яза у % в кожному послідовному тетанусі, щодо початкового зусилля в досліджуваній групі тварин) MGM: a – інтактні тварини (n=10); b – неалкоголізовані шури (n=10); c – алкоголізовані шури (n=10); d – зміна TP (Time to Peak) – час досягнення піка тетанусу в c в контролі й досліджуваних групах шурів. TRS – (tetanic guns sequence) – послідовність тетанічних пробігів; * – ($p \leq 0,05$), Δ – ($p \leq 0,01$), \blacktriangle – ($p \leq 0,001$) у досліджуваних групах шурів, порівняно з контролем; ** – ($p \leq 0,05$), $\Delta\Delta$ – ($p \leq 0,01$), $\blacktriangle\blacktriangle$ – ($p \leq 0,001$) в алкоголізованих шурів, порівняно з неалкоголізованими шурами.

Зміна FuI й Ftet у контролі та досліджуваних групах шурів чудово описується параболічною функцією з чітким правостороннім трендом (рис. 3, a–c). Необхідно зазначити, що в контролі й досліджуваних групах шурів спостерігається загальна тенденція зміни FuI та Ftet MGM (рис. 3, a–c). Проте, якщо в інтактних тварин і неалкоголізованих шурів діапазон зміни значень FuI збільшується в другій половині експерименту, то в алкоголізованих шурів ці зміни спостерігаються протягом усього дослідження (рис. 2; рис. 3, a–c).

Однак інтенсивне зменшення Ftet ішемізованого MGM у досліджуваних групах шурів протягом експерименту не супроводжується такими ж змінами часу досягнення піка тетанусу (TP) (рис. 3, d), попри збільшення діапазону зміни його значень. У неалкоголізованих шурів, порівняно з контролем, достовірно менші значення TP виявлені лише в першому тетанусі ($p \leq 0,05$), що є чудовим свідченням ішеміє-асоційованої контрактильної дисфункції MGM. У алкоголізованих шурів достовірні відмінності виявлені в 6–10 тетанусах, але, порівняно з неалкоголізованими шурами, – в 7, 9 ($p \leq 0,05$) і 11, 12 ($p \leq 0,01$) тетанусах.

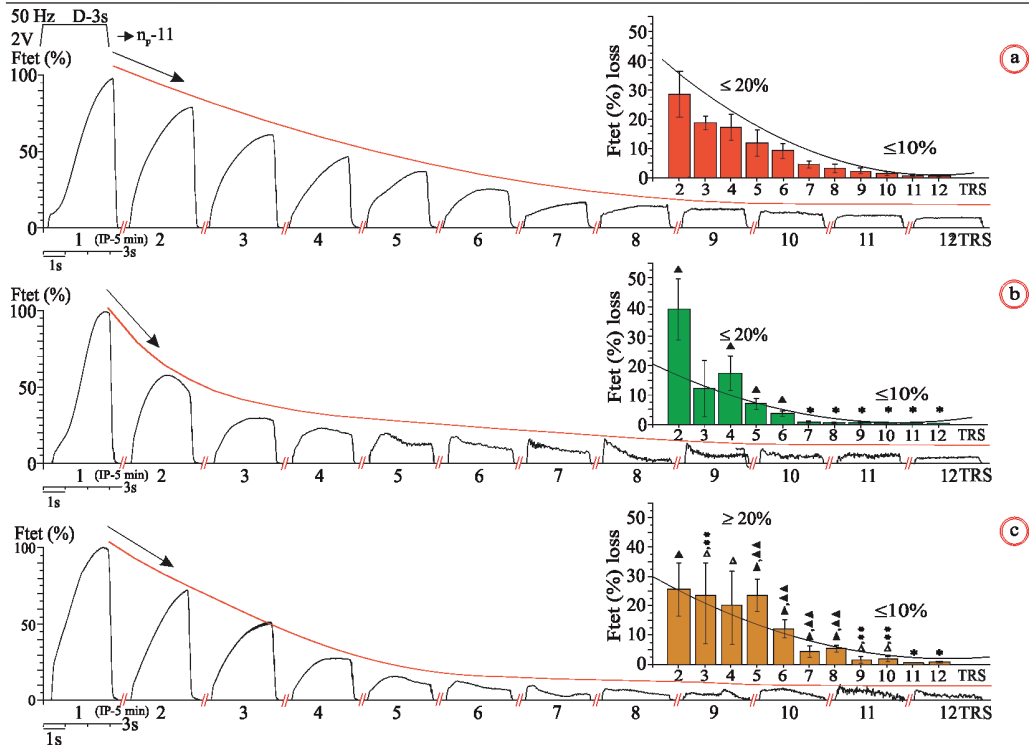


Рис. 4. Часовий хід послідовних тетанусів MGM протягом експерименту: а – інтактні тварини (n=10); б – неалкоголізовані щури (n=10); с – алкоголізовані щури (n=10). Ftet (Tetanic Force) – тетанічна сила, яка представлена як ізометрична сила м'яза у % в кожному послідовному тетанусі, щодо початкового зусилля в досліджуваній групі тварин, IP (Indifferent Period) – період бездіяльності м'яза між тетанічними пробігами, TRS (Tetanic Runs Sequence) – послідовність тетанічних пробігів. Стрілкою позначено тренд зміни Ftet MGM в контролі й досліджуваних групах щурів. На рисунку вгорі показані фізичні характеристики стимуляційного патерну: Hz – частота стимуляції, V – напруга стимулюючого сигналу, D – тривалість, pr – кількість послідовних стимуляційних патернів. Гістограми відображають втрати пікової Ftet MGM з кожним реалізованим тетанусом протягом експерименту. * – (p≤0,05), Δ – (p≤0,01), ▲ – (p≤0,001) у досліджуваних групах щурів, порівняно з контролем. ** – (p≤0,05), ΔΔ – (p≤0,01), ▲▲ – (p≤0,001) в алкоголізованих щурів, порівняно з неалкоголізованими щурами.

В цілому, інтенсивність зміни Ftet MGM протягом експерименту нерівномірна (рис. 3, а–с; рис. 4). У першій половині експерименту як у контролі, так і в досліджуваних групах щурів Ftet MGM з кожним реалізованим тетанусом зменшується найінтенсивніше: ≤ 20%, в другій половині – ≤ 10%. Проте в алкоголізованих щурів протягом першої половини експерименту ці втрати становлять ≥ 20%. Відмінності в інтенсивності втрати Ftet ішемізованим MGM у досліджуваних групах щурів, порівняно з контролем, і в алкоголізованих щурів, порівняно з неалкоголізованими, статистично достовірні (рис. 4).

Отже, виявлені нами інтенсивні зміни силової продуктивності ішемізованого MGM в алкоголізованих щурів, порівняно з неалкоголізованими, які супроводжуються достовірним збільшенням втрати Ftet м'язом і помітним збільшенням діапазону зміни значень FuI, свідчать про обтяження ішеміе-асоційованої депресії силової продуктивності MGM в алкоголізованих щурів хронічним міотоксичним впливом алкоголю, зокрема, його метаболітів:

етанолу і ацетальдегіду. Висловлено припущення, що етанол і ацетальдегід здійснюють безпосередній руйнівний вплив на посмуговані скелетні м'язи [8, 33].

Збільшення втрати Ftet ішемізованим м'язом в алкоголізованих щурів, порівняно з неалкоголізованими, свідчать про алкоголь-асоційовану атрофію міофібрил, яка в посмугованих скелетних м'язах з переважаючим анаеробним метаболізмом супроводжується зменшенням відносного вмісту м'язових протеїнів: міозину, десміну, актину і тропоніну [21], титіну та небуліну [23], а також зниженням інтенсивності їх синтезу [45]. Окрім того, висловлено припущення, що етанол може ушкоджувати виключно скоротливі білки міофібрил у посмугованих скелетних м'язах, наприклад міозин [23, 25].

Алкоголь-індуковане зниження інтенсивності білкового синтезу в посмугованих скелетних м'язах, яке призводить до зменшення м'язової маси [45], пояснюється не тільки протеолізом, але й зміною клітинної проліферації та диференціації [15] і є причиною м'язової слабкості [20]. Проте м'язова слабкість у цьому випадку пов'язана не лише з алкоголь-асоційованою атрофією міофібрил, але й зі змінами метаболізму вуглеводів і ліпідів у посмугованих скелетних м'язах [11], антиоксидантним стресом [21], зміною стану клітинних мембран [8, 9], синтезом ацетальдегід-білкових аддуктів [34], ушкодженням мітохондрій [37].

Вищезгадані алкоголь-асоційовані атрофічні зміни в посмугованих скелетних м'язах пояснюють збільшення втрат Ftet ішемізованим м'язом в алкоголізованих щурів. Окрім того, ішеміє-асоційований оксидативний стрес, який спричинений конверсією ендотеліального ферменту ксантиндегідрогенази до ксантинооксидази [19] та ушкодженням мітохондрій [36], зокрема комплексів електрон-транспортного ланцюга I, III і IV [37], експоненційно збільшує утворення реактивних форм кисню [49] і H_2O_2 [19], які ушкоджують міофібрили та мембранні системи сарколеми й мітохондрій [31].

Ці умови призводять до розвитку ацидозу [18], який помітний вже протягом перших хвилин ішемії [38] та спричиняє м'язову втому, яка супроводжується більшим ступенем інгібування сили й швидкості скорочення швидких волокон, аніж повільних [29], і пов'язана з підвищенням інтрацелюлярних концентрацій H^+ , неорганічного фосфату, гіпоксією та дефіцитом енергетичних субстратів [30]. Зокрема, збільшення інтрафібрилярної концентрації фосфату пригнічує продукцію сили шляхом прямої дії на функцію поперечних містків [7], унаслідок блокади актоміозинової взаємодії, яка пов'язана зі зв'язуванням фосфату з активним центром головки молекули міозину [48].

Тому виявлене нами збільшення втрат Ftet ішемізованим м'язом у алкоголізованих щурів є безпосереднім наслідком взаємообтяжуючого впливу міотоксичних ефектів алкоголю й ішемічної дистрофії м'яза, яка супроводжується вираженими структурними змінами саркоплазматичного ретикулуму (CP) і мітохондрій [43], дезорганізацію Z-ліній і міофібрил [22], накопиченням лактату і піровиноградної кислоти [18], креатиніну й фосфокінази [40], H^+ , вільних кисневих радикалів [18]. Також виснажуються клітинні ресурси АТФ і фосфокреатину [18], що свідчить про біоенергетичний дефіцит.

Як було зазначено вище, рівень вихідної сили м'яза залежить від ефективності тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень [16, 26]. Тому виявлене нами її погіршення в тетанусі MGM у досліджуваних групах щурів є відображенням вищезгаданих патологічних змін у м'язі та впливає на аналізовані показники його силової продуктивності.

Показано, що найбільшу силу м'яз розвиває при $FuI = 0,8$ [26]. Достовірне зменшення значень FuI у досліджуваних групах щурів, порівняно з контролем, у нашому дослідженні свідчить про погіршення ефективності потенціювання тетанічної сили індивідуальних м'язових скорочень у тетанусі ішемізованого MGM.

Виходячи з того, що ефективність тетанічної сумації послідовних м'язових скорочень залежить від таких контрактильних параметрів індивідуального скорочення, як час досягнення піку скорочення і час напіврозслаблення [13], то зміна її ефективності в тетанусі ішемізованого MGM у досліджуваних групах щурів пов'язана зі зміною часового ходу індивідуальних м'язових скорочень.

Ми вважаємо, що безпосередньою причиною зміни часового ходу індивідуальних м'язових скорочень ішемізованого MGM в обох досліджуваних групах щурів є зміна кінетики актоміозинової взаємодії, яка пов'язана не лише з алкоголь-асоційованою атрофією міофібрил, але й безпосередньо з їх ішемічним ушкодженням, про що говорилося вище.

Ймовірно, механізм, який лежить в основі погіршення ефективності тетанічної сумації послідовних м'язових скорочень ішемізованого MGM у досліджуваних групах щурів, пов'язаний із формуванням стійких актоміозинових комплексів.

Формування стійких актоміозинових комплексів, на наш погляд, можливе внаслідок виснаження клітинних ресурсів енергетичних субстратів, передусім, АТФ і збільшення концентрації вільного саркоплазматичного Ca^{2+} , який не рециркулює в СР. Це перешкоджає м'язовому розслабленню.

Висловлене нами припущення підтверджується експериментальними працями, згідно з якими під час ішемії виснажуються клітинні ресурси АТФ і фосфокреатину [18], а також збільшується концентрація вільного саркоплазматичного Ca^{2+} [44], що також характерне для алкогольної інтоксикації [32]. Збільшення концентрації вільного саркоплазматичного Ca^{2+} можливе внаслідок ішемічного ушкодження мембранних структур міофібрил, передусім СР [22, 43] і мітохондрій [43]. До того ж під час алкогольної інтоксикації мембранні структури міофібрил і мітохондрій ушкоджуються реактивними формами кисню [8, 9].

Виходячи з цього, дефіцит АТФ уможливорює формування стійких актоміозинових комплексів, унаслідок недоступності АТФ для АТФ-зв'язуючого каталітичного центру головки молекули міозину. Це призводить до замкнення активних поперечних містків, які перебувають в силопродуруючому стані у кінці їх робочого ходу в ригор-комплекс. Збільшення концентрації вільного саркоплазматичного Ca^{2+} , який, взаємодіючи з тропоніном С, усуває блокаду тропоміозином актоміозинової взаємодії, сприяє взаємодії неактивних поперечних містків з актином, які, однак, через нестачу АТФ також замикаються в ригор-комплекс. Унаслідок цього зменшується кількість вільних поперечних містків у пресиловому стані, які можуть ефективно взаємодіяти з актином і генерувати силу. Тому збільшення кількості поперечних містків у м'язі, які перебувають у несилопродуруючому стані, тобто замкнені в ригор-комплекс, призводить до зменшення швидкості скорочення міофібрил, а відтак, до зміни часового ходу послідовних індивідуальних скорочень у тетанусі ішемізованого м'яза, що безпосередньо спричинює погіршення ефективності їх тетанічної сумації.

Важливо зазначити, що попри виявлене нами достовірне погіршення ефективності тетанічної сумації послідовних м'язових скорочень ішемізованого MGM у досліджуваних групах щурів, порівняно з інтактними тваринами, не було виявлено аналогічних відмінностей у алкоголізованих щурів, порівняно з неалкоголізованими. Ймовірно, ішеміє-асоційована дистрофія міофібрил у обох досліджуваних групах щурів не дає змоги ідентифікувати їх, незважаючи на помітне збільшення діапазону зміни значень FuI у алкоголізованих щурів.

Отже, продемонстроване нами достовірне збільшення втрати Ftet ішемізованим м'язом у алкоголізованих щурів свідчить про алкогольну атрофію міофібрил і м'язову слабкість.

Проте виявлене достовірне погіршення ефективності тетанічної сумачії послідовних м'язових скорочень ішемізованого MGM у досліджуваних групах щурів свідчить про глибокі ультраструктурні й метаболічні зміни міофібрил, які спричинені ішемічним ушкодженням, а в алкоголізованих щурів обтяжені ще й хронічним мітоксичним впливом алкоголю.

Патологічні зміни структури й метаболізму міофібрил призводять до зміни часового ходу послідовних індивідуальних скорочень у тетанусі ішемізованого MGM і, відповідно, до погіршення ефективності їх тетанічної сумачії. Це впливає на рівень розвиненої ішемізованим MGM тетанічної сили і на його здатність ефективно підтримувати її протягом тривалого часу.

Отже, хронічна алкогольна інтоксикація обтяжує ішеміє-асоційовану депресію силової продуктивності MGM у алкоголізованих щурів. Алкоголь-індуковане обтяження ішеміє-асоційованої депресії силової продуктивності м'яза у алкоголізованих щурів проявляється збільшенням втрат тетанічної сили ішемізованим MGM у алкоголізованих щурів у кожному послідовному тетанусі протягом експерименту. Це свідчить про прискорений розвиток м'язової втоми, яка асоціюється з ультраструктурними й метаболічними змінами у м'язі, що пов'язані з ішемічним ушкодженням міофібрил і хронічним мітоксичним впливом алкоголю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Білий В. Я. Військова хірургія з хірургією надзвичайних ситуацій / за ред. В.Я. Білого. Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. 324 с.
2. Донцов В. В. Рання діагностика та комплексне лікування гострої ішемії м'язів при травмах кінцівок у постраждалих в дорожньо-транспортних подіях: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.21. Харків, 2008. 33 с.
3. Мельничук О. А., Мотузюк О. П., Швайко С. Є. та ін. Кінетика тетанусу musculus gastrocnemius у алкоголізованих щурів із експериментально-індукованою васкулярною ішемією задніх кінцівок за умов низькочастотної м'язової втоми // Вісн. Дніпропетров. ун-ту. Біологія, Екологія. 2014. Т. 22. №. 1. С. 8–19.
4. Черняк В. А. Хірургічне лікування критичної ішемії нижніх кінцівок // Серце і судини. 2013. № 1. С. 54–63.
5. Халилов М. Х., Закихорджаев Ш. Я. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации // Вопросы клиники алкоголизма: сб. науч. тр. Ташкент. 1983. С. 38–41.
6. Яновський І. І., Ужако П. В. Фізіологія людини і тварин. Практикум: навч. посібник. К.: Вища школа, 1991. 175 с.
7. Allen D. G., Lamb G. D., Westerblad H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms // Physiol Rev. 2008. Vol. 88. N 1. P. 287–332.
8. Aberle N. S., Ren J. Short-term acetaldehyde exposure depresses ventricular myocyte contraction: role of cytochrome P450 oxidase, xanthine oxidase, and lipid peroxidation // Alcohol. Clin. Exp. Res. 2003. Vol. 27. N 4. P. 577–583.
9. Adachi J., Asano M., Ueno Y. et al. 7alpha- and 7beta-hydroperoxycholest-5-en-3beta-ol in muscle as indices of oxidative stress: response to ethanol dosage in rats // Alcohol. Clin. Exp. Res. 2000. Vol. 24. N 5. P. 675–681.

10. *Borges G., Cherpitel C. J., Mondragón L.* et al. Episodic alcohol use and risk of nonfatal injury // *Am. J. Epidemiol.* 2004. Vol. 159. N 6. P. 565–571.
11. *Burke L. M., Collier G. R., Broad E. M.* et al. Effect of alcohol intake on muscle glycogen storage after prolonged exercise // *J. Appl. Physiol.* 2003. Vol. 95. N 3. P. 983–990.
12. *Celichowski J., Krutki P.* Variability and plasticity of motor unit properties in mammalian skeletal muscle // *Biocybern. Biomed. Eng.* 2012. Vol. 32. N 4. P. 33–45.
13. *Celichowsky J., Pogrzebna M., Raikova R. T.* Analysis of the unfused tetanus course in fast motor units of the rat medial gastrocnemius muscle // *Arch. Ital. Biol.* 2005. Vol. 143. N 1. P. 51–63.
14. *Creager M. A., Kaufman J. A., Conte M. S.* Acute limb ischemia // *N. Engl. J. Med.* 2012. Vol. 366. N 1. P. 2198–2206.
15. *Clary C. R., Daniel G. M., Bratina M. A.* Chronic alcohol ingestion exacerbates skeletal muscle myopathy in HIV-1 transgenic rats // *AIDS Research and Therapy.* 2011. Vol. 8. N 30. P. 1–9.
16. *Drzymala-Celichowska H., Krutki P., Celichowski J.* Summation of motor unit forces in rat medial gastrocnemius muscle // *J. Electromyogr. Kines.* 2010. Vol. 20. N 4. P. 599–607.
17. *Earnshaw J.* Acute ischaemia: Evaluation and decision making. In: Cronenwett J., Wayne K., eds. *Rutherford's Vascular Surgery.* 7th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 2010. P. 2389–2398.
18. *Eliason J. L., Wakefield T. W.* Metabolic consequences of acute limb ischemia and their clinical implications // *Semin. Vasc. Surg.* 2009. Vol. 22. N 1. P. 29–33.
19. *Engerson T. D., Mc Kelvey T. G., Rhyne D. B.* et al. Conversion xantine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat tissues // *J. Clin. Invest.* 1987. Vol. 79. N 6. P. 424–467.
20. *Frost R. A., Nystrom G., Burrows P. V.* et al. Temporal differences in the ability of ethanol to modulate endotoxin-induced increases in inflammatory cytokines in muscle under *in vivo* conditions // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2005. Vol. 29. N 7. P. 1247–1256.
21. *Fernandez-Sola J., Preedy V. R., Lang C. H.* et al. Molecular and cellular events in alcohol-induced muscle disease // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2007. Vol. 31. N 12. P. 1953–1962.
22. *Gregory M. A., Mars M.* Alterations in the morphology of skeletal myofibres after 90 minutes of ischaemia and 3 hours of reperfusion // *South African Medical Journal.* 1991. Vol. 79. N 6. P. 307–311.
23. *Hunter R. J., Neagoe C., Järveläinen H. A.* et al. Alcohol affects the skeletal muscle proteins, titin and nebulin in male and female rats // *J. Nutr.* 2003. Vol. 133. N 4. P. 1154–1157.
24. *Iizuka S., Miura N., Fukushima T.* et al. Gluteal compartment syndrome due to prolonged immobilization after alcohol intoxication: a case report // *Tokai. J. Exp. Clin. Med.* 2011. Vol. 36. N 2. P. 25–28.
25. *Koll M., Ahmed S., Mantle D.* et al. Effect of acute and chronic alcohol treatment and their superimposition on lysosomal, cytoplasmic, and proteosomal protease activities in rat skeletal muscle *in vivo* // *Metabolism.* 2002. Vol. 51. N 1. P. 97–104.
26. *Krutki P., Pogrzebna M., Drzymalala H.* et al. Force generated by fast motor units of the rat medial gastrocnemius muscle during stimulation with pulses at variable intervals // *J. Physiol. Pharmacol.* 2008. Vol. 59. N 1. P. 85–100.
27. *Lang C. H., Frost R. A., Vary T. C.* Skeletal muscle protein synthesis and degradation exhibit sexual dimorphism after chronic alcohol consumption but not acute intoxication // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007. Vol. 292. N 6. P. 1497–1506.
28. *Malinoski D. J., Slater M. S., Mullins R. J.* Crush injury and rhabdomyolysis // *Crit. Care. Clin.* 2004. Vol. 20. N 1. P. 171–192.

29. Metzger J. M., Moss R. L. Greater hydrogen ion-induced depression of tension and velocity in skinned single fibres of rat fast then slow muscles // *J. Phys. (Lond)*. 1987. Vol. 393. P. 727–742.
30. Murthy G., Hargens A. R., Lehman S. et al. Ischemia causes muscle fatigue // *J. Orthopaedic Res.* 2001. Vol. 19. N 3. P. 436–440.
31. Noveli G. P., Adembri C., Gandini E. et al. Vitamin E protects human skeletal muscle from damage during surgical ischemia-reperfusion // *Am. J. Surg.* 1997. Vol. 173. N 3. P. 206–209.
32. Oba T., Koshita M., Yamaguchi M. Ethanol enhances caffeine-induced Ca^{2+} release channel activation in skeletal muscle sarcoplasmic reticulum // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 1997. Vol. 272. N 2. Pt 1. P. 622–627.
33. Oba T., Maeno Y., Ishida K. Differential contribution of clinical amounts of acetaldehyde to skeletal and cardiac muscle dysfunction in alcoholic myopathy // *Curr. Pharm. Des.* 2005. Vol. 11. N 6. P. 791–800.
34. Niemelä O., Parkkila S., Koll M. et al. Generation of protein adducts with malondialdehyde and acetaldehyde in muscles with predominantly type I or type II fibers in rats exposed to ethanol and the acetaldehyde dehydrogenase inhibitor cyanamide // *Am. J. Clin. Nutr.* 2002. Vol. 76. N 3. P. 668–674.
35. Preedy V. R., Adachi J., Ueno Y. et al. Alcoholic skeletal muscle myopathy: definitions, features, contribution of neuropathy, impact and diagnosis // *Eur. J. Neurol.* 2001. Vol. 8. N 6. P. 677–687.
36. Pipinos I. I., Judge A. R., Zhu Z. et al. Mitochondrial defects and oxidative damage in patients with peripheral arterial disease // *Free. Radic. Biol. Med.* 2006. Vol. 41. N 2. P. 262–269.
37. Pipinos I. I., Swanson S. A., Zhu Z. et al. Chronically ischemic mouse skeletal muscle exhibits myopathy in association with mitochondrial dysfunction and oxidative damage // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2008. Vol. 295. N 1. P. 290–296.
38. Soussi B., Idström J. P., Bylund-Fellenius A. C. et al. Dynamics of skeletal muscle energetics during ischemia and reperfusion assessed by *in vivo* ^3P NMR // *NMR Bio-med.* 1990. Vol. 3. N 2. P. 71–77.
39. Sotoudeh A., Takhtfooladi M. A., Jahanshahi A. et al. Effect of N-acetylcysteine on lung injury induced by skeletal muscle ischemia-reperfusion // *Histopathological study in rat model. Acta. Cir. Bras.* 2012. Vol. 27. N 2. P. 168–171.
40. Souza-Moraes M. R., David-Filho R., Baptista-Silva J. C. et al. Effect of antibodies to intercellular adhesion molecule type 1 on the protection of distant organs during reperfusion syndrome in rats // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2003. Vol. 36. N 5. P. 605–612.
41. Shireman P. K., Contreras-Shannon V., Ochoa O. et al. MCP-1 deficiency causes altered inflammation with impaired skeletal muscle regeneration // *J. Leukocyte Biol.* 2007. Vol. 81. N 3. P. 775–785.
42. Shakeri A. B., Tubbs R. S., Shoja M. M. The most common anatomical sites of arterial injury in the extremities: a review of 75 angiographically-proven cases // *Folia Morphol.* 2006. Vol. 65. N 2. P. 116–120.
43. Stenger R. J., Spiro D., Scully R. E. et al. Ultrastructural and physiological alterations in ischemic skeletal muscle // *Am. J. Pathol.* 1962. Vol. 40. N 1. P. 1–20.
44. Tupling R., Green H., Senisterra G. et al. Effects of ischemia on sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} uptake and Ca^{2+} release in rat skeletal muscle // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2001. Vol. 281. N 2. P. 224–232.
45. Vary T. C., Nairn A. C., Lang C. H. Restoration of protein synthesis in heart and skeletal muscle after withdrawal of alcohol // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2004. Vol. 28. N 4. P. 517–525.

46. *Vogt B. L., Richie J. P. Jr.* Glutathione depletion and recovery after acute ethanol administration in the aging mouse // *Biochem. Pharmacol.* 2007. Vol. 73. N 10. P. 1613–1621.
47. WHO. World health statistics 2014. Geneva: World Health Organization, 2014. P. 180.
48. *Westerblad H., Fllen D. G., Lannergren J.* Muscle Fatigue: lactic acid or inorganic phosphate the major case? // *News. Phisiol. Sci.* 2002. Vol. 17. N 1. P. 17–21.
49. *Wredenberg A., Wibom R., Wilhelmsson H.* et al. Increased mitochondrial mass in mitochondrial myopathy mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. N 23. P. 15066–15071.

Стаття: надійшла до редакції 07.11.14

доопрацьована 04.03.15

прийнята до друку 30.03.15

MUSCULUS GASTROCNEMIUS OUTPUT FORCE INTENSITY CHANGES ANALYSIS IN ALCOHOLIC RATS WITH 6-HOUR HIND LIMB VASCULAR ISCHEMIA

O. Melnychuk, A. Motuziuk, T. Poruchynska

*Lesia Ukrainka Eastern European National University
13, Volya Ave., Lutsk 43025, Ukraine
e-mail: olexiy melnychuk@gmail.com*

In the article is analyzed the intensity of force changes of ischemic musculus gastrocnemius medialis in alcoholic rats. Investigated rats were divided into 2 groups: non-alcoholic (n=10) and alcoholic (n=10). The control group consists of an intact animals (n=10). The registration of muscle mechanical activity was carried out in isometric mode under the direct electrical stimulation. In investigated rats group was found deterioration of tetanic summation effectiveness of successive muscular contractions and increasing tetanic force loss, in comparison to the intact animals. Was found, that in alcoholic rats, in comparison to non-alcoholic rats, the fusion index range and tetanic force loss are increasing, simultaneously, when the time to tetanic peak and fusion index is not significantly changing. The significant fusion index changes, founded in investigated rats group, indicate at the tetanic force deterioration of individual successive muscular contractions in ischemic muscle tetanus, that is one of the muscle output force depression and connected with ischemic disease.

Keywords: vascular ischemia, alcohol intoxication, output force, muscle contraction summation, m. gastrocnemius.

АНАЛИЗ ИНТЕНСИВНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ СИЛОВОЙ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ М. GASTROCNEMIUS У АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС С 6-ЧАСОВОЙ ВАСКУЛЯРНОЙ ИШЕМИЕЙ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

А. Мельничук, А. Мотузюк, Т. Поручинская

*Восточноевропейский национальный университет имени Леси Украинки
пр. Свободы, 13, Луцк 43025, Украина
e-mail: olexiy melnychuk@gmail.com*

В работе анализировали интенсивность изменений силовой производительности ишемизированного musculus gastrocnemius medialis у алкоголизированных

крыс. Исследуемые крысы были разделены на 2 группы: неалкоголизованные (n=10) и алкоголизованные (n=10). Контрольная группа состояла из интактных животных (n=10). Регистрация механической активности мышцы осуществлялась в изометрическом режиме, в условиях ее непосредственной электрической стимуляции. В исследуемых группах крыс обнаружено ухудшение эффективности тетанической суммации последовательных мышечных сокращений и увеличения потерь тетанической силы, по сравнению с интактными животными. Установлено, что у алкоголизованных крыс, по сравнению с неалкоголизованными, потери тетанической силы больше, а время достижения пика тетануса и индекс слияния достоверно не изменяются. Обнаруженные в исследуемых группах крыс достоверные изменения индекса слияния указывают на ухудшение потенцирования тетанической силы индивидуальных мышечных сокращений в тетанусе ишемизированной мышцы, которое является одной из предпосылок депрессии его силовой производительности и связано с ишемией.

Ключевые слова: васкулярная ишемия, алкогольная интоксикация, силовая производительность, суммация мышечных сокращений, m. gastrocnemius.