

УДК: 612.741.15

ВПЛИВ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДУ (ДМСО) НА ДИНАМІКУ СКОРОЧЕННЯ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЖАБИ В ІЗОТОНІЧНОМУ РЕЖИМІ

Д. Ноздренко*, О. Абрамчук**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, Київ 01033, Україна

**Волинський національний університет імені Лесі Українки
вул. Проспект Волі, 13, Луцьк 43026, Україна
e-mail: olichka2008@meta.ua

Було досліджено динамічні параметри скорочення пучків волокон скелетного м'яза жаби *Rana temporaria* в ізотонічному режимі під впливом двокомпонентної модульованої стимуляції та диметилсульфоксиду. Показано, що використання розчинів ДМСО в концентраціях до 1% не викликало суттєвих змін динамічних параметрів скорочення. У той же час дія 2%-го розчину ДМСО лінійно зменшувала силову відповідь і скорочення м'язових волокон.

Ключові слова: скелетний м'яз, диметилсульфоксид, динамічні параметри, сила, довжина, скорочення.

Підвищений інтерес дослідників до структурно-функціональної організації рухової системи та тонких механізмів роботи її окремих елементів детермінований надзвичайною значимістю м'язів для здійснення локомоції та підтримання пози біологічних об'єктів [2, 3, 5, 11].

Сучасний етап досліджень процесів м'язового скорочення потребує детального вивчення механізмів впливу різних біологічно активних речовин на механіку даних процесів. Однак відомо, що деякі біологічно активні речовини погано розчинні у воді, але добре розчинні в органічних розчинниках [6, 7, 9]. Досить часто як розчинник використовують диметилсульфоксид (ДМСО) [6, 8]. Описані різні випадки використання ДМСО як розчинника для біологічно активних речовин при роботі з м'язовими структурами. Концентрації диметилсульфоксиду, які не впливають на параметри скорочення у різних джерелах коливаються в межах від 1 до 5% [1, 8, 10]. Тому для коректної оцінки отриманих результатів виникла необхідність перевірити дію розчинів ДМСО на зміну параметрів скорочення скелетно-м'язових волокон.

Дослідження проводили на пучках волокон м'яза *m.tibialis* жаби *Rana temporaria* аналогічно [4]. Волокна виділяли механічним шляхом після декапітації піддослідних тварин та інкубували протягом 2 годин в інтервалі температур $(+3\pm 1)^\circ\text{C}$ для адаптації до подальших умов експерименту. Фіксацію м'язового препарату здійснювали за допомогою алюмінієвих затискачів. Препарат розміщували в плексигласовій камері з постійно циркулюючим фізіологічним розчином Рінгера. Температуру циркулюючого розчину підтримували в інтервалі температур $(+3\pm 1)^\circ\text{C}$ за допомогою охолодження. Один кінець волокна приєднували до ємнісного датчика сили, чутливість якого дорівнювала 0,1 г на 1000 мВ. Датчик сили був жорстко зафіксований на мікроманіпуляторі з кроком 0,8 мкм. Другий кінець препарату жорстко фіксували до датчика довжини, який являв

собою фотоелектронний помножувач. Стимуляцію здійснювали за допомогою двох платинових електродів, розміщених у дослідницькій камері на відстані 4 мм по обидва боки м'язового волокна. Стимулювали прямокутними імпульсами тривалістю 3 мс із частотою від 0,5 до 30 Гц. Період релаксації становив 2 хв. Параметри стимуляції задавали з комп'ютера за допомогою генератора імпульсів. В експериментах використовували розчини диметилсульфоксиду: 0,2%, 0,5%, 0,7%, 1%, 2%. Циркулюючий фізіологічний розчин Рінгера, а також розчини ДМСО подавали в камеру через систему трубок.

Кожна з представлених на рисунках кривих є результатом усереднення серії з 12-ти аналогічних експериментів. Усі експерименти проведені на окремих тваринах.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 7.0. При побудові графіків враховували відносну й абсолютну похибки експерименту.

Відомо, що деякі біологічно активні речовини практично нерозчинні у фізіологічних розчинах [8]. Для вирішення цієї проблеми використовують органічні розчинники, зокрема, диметилсульфоксид. Водночас відомо, що ДМСО є реакційноздатною сполукою, яка навіть при незначних концентраціях може змінювати динамічні, біохімічні та механічні параметри скорочення м'язів. Тому при дослідженні кінетики скорочень, викликаних короткочасовими стимулюючими сигналами, незначні похибки, які виникають під впливом розчинника, можуть суттєво змінювати характер досліджуваних кривих. Аби впевнитись у тому, що використаний розчинник не впливає на результати досліджень, були проведені експерименти з безпосереднім використанням ДМСО в досліджуваному інтервалі концентрацій (0,2–2%).

Для зручності опису отриманих результатів і їх адекватного трактування ми провели розподіл динамічної відповіді активного м'яза на окремі часові ділянки (фази – тривалістю 500 мс), які відповідали різним функціональним та часовим станам процесу скорочення. Силова відповідь м'яза була розділена на три функціональні фази (рис. 1).

F1 – початок силової відповіді м'яза, яка збігається з початком стимулюючого сигналу.

F2 – відповідає виходу силової продуктивності м'яза на стаціонарний рівень, без помітного тренду в той чи інший бік.

F3 – кінцева фаза активності м'яза.

Зміна довжини м'язових волокон була розбита на три фази.

L1 – початок зміни довжини м'яза (перші 500 мс стимулюючого сигналу).

L2 – відповідає часу виходу довжини на стаціонарний рівень скорочення.

L3 – відповідає закінченню скорочення, пов'язаного з завершенням еферентної стимуляції.

При аналізі кривих зміни довжини в даній серії дослідів ми проаналізували перші дві фази. Фазу L3 не аналізували, оскільки впродовж цієї фази відбувалися помітні флуктуації, навіть після закінчення стимуляції. На нашу думку, це пов'язано з можливою зміною жорсткісного компонента м'язових волокон, викликаного різкою зміною пружності волокна, який у свою чергу залежав від миттєвого закінчення стимулюючого сигналу.

У результаті досліджень встановлено, що після початку стимулюючого сигналу частотою 30 Гц і загальною тривалістю 3000 мс силова відповідь м'яза у фазі F1 досягає свого максимуму протягом перших 50–80 мс дії стимулюючого подразника.

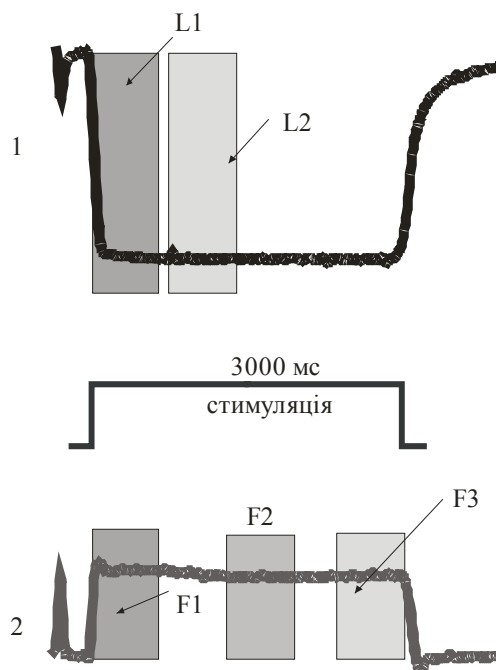


Рис. 1. Розподіл динамічної відповіді м'язових волокон на окремі часові ділянки (фази тривалістю 500-мс): 1 – довжина, 2 – сила.

Незначне спадання сили після досягнення нею максимального значення на графіках зміни сили скорочення м'яза, на нашу думку, являє собою інерційну компоненту і не несе раціональної інформації про вплив досліджуваних речовин. Відсутність вказаної інерційної компоненти на графіках зміни довжини волокон, можливо, пов'язане зі зростаючою твердістю м'язового волокна при різкій зміні його довжини з нативного стану.

Для отримання початкового тестованого руху не з нативного стану спокою м'язових волокон, а зі стану незначного попереднього напруження подавали поодинокий стимулюючий сигнал. Внаслідок цього на графіках спостерігався незначний пік, який виникав перед відповіддю м'яза на стимулюючий сигнал. Дана процедура давала змогу отримувати згладжені відповіді без помітних флуктуаційних коливань у початкових фазах скорочення (F1, L1).

У результаті досліджень було встановлено, що розчини ДМСО в концентраціях 0,2%, 0,5%, 0,7% не справляли помітного впливу на механіку м'язового скорочення досліджуваних об'єктів, оскільки при використанні розчинів даних концентрацій форма характеристичних кривих протягом експерименту залишалася незмінною (рис. 2).

F – зміна сили м'язового скорочення; L – зміна довжини скорочення. Жирними лініями позначена тривалість і форма стимулюючого сигналу. По осі абсцис відображена тривалість скорочення, по осі ординат – зміна параметрів скорочення у відсотках від початкового рівня. Заштриховані ділянки відповідають межах досліджуваних фаз (F1, F2, F3, L1, L2). Тривалість виділених фаз 500 мс. Час релаксації 2 хв.

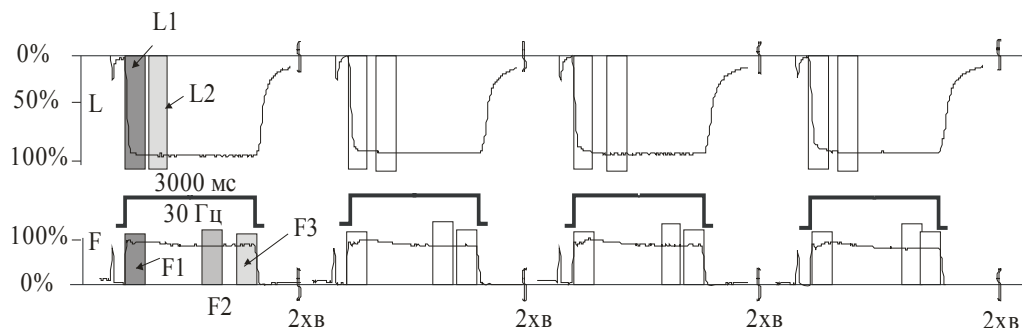


Рис. 2. Вплив розчину ДМСО (концентрація 0,7%) на динамічні параметри скорочення викликані електростимуляцією з частотою 30 Гц та тривалістю 3000 мс.

При дії концентрацій розчинів ДМСО впродовж періоду спостереження відбувалося несуттєве зменшення досліджуваних показників на усіх фазах скорочення. При дослідженні впливу 0,2%, 0,5% та 0,7%-х розчинів ДМСО на динамічні параметри скорочення, викликані електростимуляцією з частотою 30 Гц і тривалістю 3000 мс ми встановили лінійний характер залежності змін сили та довжини м'язового скорочення від тривалості дії розчинника.

При дослідженні впливу 1% розчинів ДМСО ми встановили зменшення досліджуваних параметрів скорочення (рис. 3). На 12-й хвилині дії розчинника показники зміни довжини скорочення впродовж фаз L1 та L2 для 1% розчину дорівнювали $96,5 \pm 1,1$ та $97 \pm 2,4\%$, від контролю, відповідно. Слід зазначити, що у даному випадку зміни показників силової відповіді м'яза були більш вираженими порівняно зі зменшенням

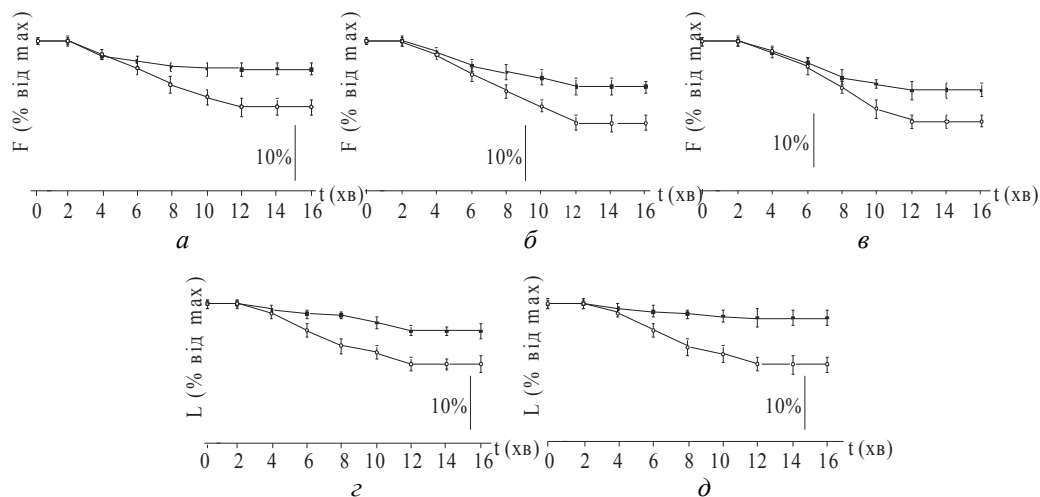


Рис. 3. Вплив розчинів ДМСО на динамічні параметри скорочення, викликані електростимуляцією з частотою 30 Гц та тривалістю 3000 мс, залежно від тривалості дії реагента: – розчин ДМСО 1%; – розчин ДМСО 2%; F – зміна сили м'язового скорочення; L – зміна довжини скорочення. а – фаза F1; б – F2; в – F3; г – L1; д – L2 ($M \pm m$, $n=12$). Тривалість виділених фаз 500 мс. Час релаксації 2 хв.

скорочення м'язових волокон. Пригнічення розвитку сили скорочення впродовж фази F1 становило $94,8 \pm 1,6\%$, F2 – $92,6 \pm 1,9\%$, F3 – $91,7 \pm 1,8\%$ ($p > 0,05$) від контролю.

При дослідженні 2%-го розчину ДМСО встановлено помітне зниження досліджуваних параметрів упродовж усіх фаз м'язового скорочення (рис. 3). Зміни довжини м'язових волокон упродовж досліджуваних фаз при цьому набували однакових значень після 12-ї хв експерименту ($88,4 \pm 1,7\%$ від контролю). Досягнення стаціонарного стану силової відповіді м'яза відбувалося також після 12-ї хв дії стимулюючого сигналу (F1 – $88,2 \pm 2,4$; F2 – $86,4 \pm 1,9$; F3 – $88,1 \pm 2,5\%$ порівняно з контролем).

Таким чином, можна припустити, що використання розчинів ДМСО у концентраціях до 1% не викликало суттєвих змін динамічних параметрів скорочення. У той же час дія 2%-го розчину ДМСО лінійно зменшувала силову відповідь і вкорочення м'язових волокон з виходом на стаціонарний рівень скорочення після 8-12-ї хв спостереження.

Отже, при проведенні досліджень динамічних характеристик скорочення скелетного м'яза в експериментальних розчинах концентрації диметилсульфоксиду не повинні перевищувати 0,5–0,7%. Відмивання м'язових препаратів розчином Рінгера супроводжувалося відновленням динамічних параметрів скорочення до вихідних значень.

-
1. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. М.: Мир, 1986. 425 с.
 2. Бэгшоу К. Мышечное сокращение / Пер. с англ. М.: Мир, 1985. 128 с.
 3. Мак-Комас А. Дж. Скелетные мышцы. К.: Олимпийская литература, 2001. 406 с.
 4. Мірошніченко М. С., Залюло І. А., Ноздренко Д. М., Прилуцький Ю. І. Динаміка скорочення ізольованого м'язового волокна // Фізика живого. 2002. № 2. С. 71–77.
 5. Скок В. И., Шуба М. Ф. Физиология нервов и мышц. К.: Вища шк., 1986. 224 с.
 6. Харкевич Д. А. Фармакология. М.: Медицина, 1993. 593 с.
 7. Formica J. V., Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids // Food Chem. Toxicol. 1995. Vol. 33. N 12. P. 1061–1080.
 8. Middleton E., Kandaswami J. C., Theoharides T. C. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer // Pharmacol. Rev. 2000. Vol. 52. N 4. P. 673–751.
 9. Nijveldt R. J., Nood E., Hoorn D. E. et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications // Am. J. Clin. Nutr. 2001. Vol. 74. N 4. P. 418–425.
 10. Parmar N. S., Ghosh M. S. Current trends in flavonoid research // Ind. J. Pharmac. 1980. Vol. 12. N 4. P. 213–228.
 11. Rios E., Ma J. J., Gonzalez A. The mechanical hypothesis of excitation-contraction (EC) coupling in skeletal muscle // J. of Muscle Research and Cell Motility. 1991. Vol. 12. P. 127–135.

EFFECT OF DIMETHYL SULPHOXIDE (DMSO) ON DYNAMIC CHARACTERISTICS OF THE FROG MUSCLE FIBRES CONTRACTION UNDER ISOTONIC CONDITION

D. Nozdrenko*, O. Abramchuk**

**Taras Shevchenko National University of Kyiv
64, Volodymyrska St., Kyiv 01033, Ukraine*

***Lesya Ukrainka Volyn National University
13, Volya Ave., Lutsk 43026, Ukraine
e-mail: olichka2008@meta.ua*

This work is devoted to investigation of the influence of DMSO on dynamics of the contraction of skeletal muscle fibers of the frog *Rana temporaria*. The research was carried out by means of tensometry. The experiments were carried out in the isotonic regime under the constant control of dynamic parameters of the contraction. The use of the DMSO leads to inhibition of the muscle contraction.

Key words: skeletal muscle, dimethyl sulfoxide, dynamic parameter, length, strength, contraction.

ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА (ДМСО) НА ДИНАМИКУ СОКРАЩЕНИЯ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ЛЯГУШКИ В ИЗОТОНИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ

Д. Ноздренко*, О. Абрамчук**

**Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
ул. Владимирская, 64, Киев 01033, Украина*

***Волынский национальный университет имени Леси Украинки
ул. Проспект Воли, 13, Луцк 43026, Украина
e-mail: olichka2008@meta.ua*

Исследовали влияние диметилсульфоксида (ДМСО) на динамику сокращения пучков волокон скелетной мышцы лягушки *Rana temporaria* в изотоническом режиме под влиянием модулированной стимуляции. Показано, что использование 1%-х растворов диметилсульфоксида не вызывало значительных изменений динамических параметров сокращения. В то же время действие 2%-х растворов ДМСО линейно угнетало развитие силы и изменение длины мышечных волокон.

Ключевые слова: скелетная мышца, диметилсульфоксид, динамические параметры, сила, длина, сокращение.

Стаття надійшла до редколегії 19.12.08

Прийнята до друку 17.02.09