

Л.А. Бугайченко

Вплив стомлення на характеристики скорочення та подовження литкового м'яза kota за контрольованих змін навантаження

Изучали влияние утомленных мышечных волокон на сократительные свойства соседних, ранее не активированных, волокон в икроножной мышце кошки. Утомление части икроножной мышцы наступало вследствие стимуляции перерезанного вентрального корешка S1 с частотой 50 с⁻¹ в течение 20 с, с последующим 10-секундным отдыхом, на протяжении 10–30 мин. Для тестирования ранее не активных волокон применяли распределенную стимуляцию разделенного на филаменты вентрального корешка L7, с частотой 10 с⁻¹ для каждого филамента. После установления силы мышцы на стационарном уровне в изометрическом режиме совершали переход в изотонический. Переходные процессы укорочения и сокращения были проанализированы на основе двухкомпонентной модели, включающей быстрый безинерционный (БЭ) и медленный аperiodический (АЭ) элементы. Длительность тестов была 12 с, интервалы между тестами – 3 мин. Кондиционирующая стимуляция приводила к уменьшению силы изометрического сокращения тестируемой части мышцы, а также скорости ее укорочения и удлинения. Это сопровождалось изменениями характеристик переходных процессов, в зависимости от направления движения: увеличением постоянной времени АЭ – для укорочения, увеличением веса БЭ – для удлинения, и уменьшением асимптотического значения длины для обоих направлений. Мы предполагаем, что причиной ухудшения сократительной функции ранее неактивных мышечных волокон была диффузия метаболитов от соседних утомленных волокон.

ВСТУП

Тривала робота м'яза супроводжується змінами концентрацій метаболітів у інтерстиціальному середовищі. Так, підвищення концентрації K^+ в інтерстиції внаслідок тривалої активації м'язових волокон зменшує амплітуду потенціалу дії (ПД), що у свою чергу зменшує кількість кальцію, який вивільнюється з саркоплазматичного ретикулула після надходження ПД до м'язового волокна [12, 13]. Було висловлено припущення про розповсюдження ефектів стомлення від стомлених до нестомлених волокон [7, 8]. Вважають, що основою для такого розповсюдження є змішане розташування волокон різних

моторних одиниць, яке характерне для м'язів ссавців [3]. Нещодавно було показано зменшення міограми й сили скорочення моторних одиниць, сусідніх зі стомленими [9].

Метою нашої роботи було визначити ефекти стомлення, які поширюються в м'язовій тканині на характеристики скорочення та подовження цього м'яза.

МЕТОДИКА

Дослідження було проведено на п'яти дорослих котах обох статей масою 2,9–5,0 кг. Спочатку тварину наркотизували внутрішньочеревинно (пентобарбітал натрію, 50 мг/кг) із подальшим внутрішньовенним

введенням наркозу у разі необхідності. Артеріальний тиск вимірювали через катетер, вставлений у загальну сонну артерію. Для підтримки постійного тиску до внутрішньої яремної вени вводили суміш фізіологічного розчину, реополіглюкіну та глюкози. Сухожилля камбалоподібного м'яза перерізали. Обидві головки литкового м'яза виділяли з навколишніх тканин, їх сухожилля з невеликим шматочком кістки з'єднували з механостимулятором. Усі нерви задньої кінцівки, окрім іннервуючого литковий м'яз, перерізали. Ламінектомію виконували на рівні сегментів L3–L7. Дорсальні й вентральні корінці сегментів L7 і S1 перерізали. Колінний суглоб жорстко фіксували. По закінченні дослідів здійснювали евтаназію великою дозою пентобарбіталу натрію.

Для отримання скорочення, подібного до природного, за допомогою спеціального електронного пристрою здійснювали розподілену стимуляцію вентрального корінця (ВК) L7, розщепленого на п'ять приблизно рівних частин. Силу стимуляції для кожного з філаментів обирали такою, щоб викликати рівні за амплітудою поодинокі ізометричні скорочення м'яза. Тривалість стимулів була 0,2 мс. Початкову довжину м'яза встановлювали в середині його фізіологічного діапазону близько довжини спокою. В кожному тесті після початку розподіленої стимуляції та виходу на плато сили ізометричного скорочення, здійснювали ступінчастий перехід механостимулятора до сервоконтролю навантаження. Після цього навантаження збільшували або зменшували ступінчасто, при цьому реєстрували траєкторії подовження або скорочення м'яза. Перед припиненням стимуляції корінців знову здійснювали перехід до ізометричного режиму на рівні початкової довжини м'яза. Тривалість тесту не перевищувала 12 с, інтервали між тестами в серії становили 3 хв.

Кондиціонує стомлювальну стимуляцію, тривалість якої була 10–30 хв, сила

стимулів – близько 1,3 моторного порога (тривалість імпульсу – 0,2 мс), проводили між тестовими серіями. Для стомлення м'яза застосовували стимуляцію ВК S1 з частотою 50 с⁻¹, після 20 с стимуляції надавалося 10 с відпочинку.

Пристрої введення – виведення сигналів фірми „National Instruments” (США) (РСІ-6711, РСІ-6023Е) з пакетом програм LabView 6.0. використовували для реєстрації результатів і генерації командного сигналу для сервокерованого механостимулятора. Введення результатів здійснювали з частотою зчитування 1 кГц. Жорсткість механостимулятора була 0,06 Н/мм.

РЕЗУЛЬТАТИ

Фрагменти стандартної експериментальної процедури одного з дослідів зображено на рис. 1. Кондиціонує стомлювальна стимуляція призводила до зменшення сили ізометричного скорочення тих моторних одиниць, які було активовано стимуляцією вентрального корінця S1 (див. рис. 1, а, б). При цьому спостерігали зменшення сили інших моторних одиниць, які було активовано стимуляцією вентрального корінця L7 – після шести послідовностей КСС і тестових серій, сила ізометричного тетануса P_0 зменшилася на 27 % від початкового значення (див. рис. 1, в, г).

Аналіз перехідного процесу встановлення нової довжини м'яза при зміні зовнішнього навантаження проводили згідно з моделлю, описаною раніше [6]. Траєкторія скорочення (при $\Delta P < 0$) або подовження (при $\Delta P > 0$) зазвичай розглядали як алгебраїчну суму двох компонентів. Перший доданок розглядається як ступінчаста функція, і є реакцією безінерційного елемента (БЕ), який має еластичну природу. Другий доданок – повільний експоненціальний перехід до нового значення довжини, можна вважати реакцією аперіодичного елемента (АЕ), який є відоб-

раженням роботи актиноміозинових містків. Кількісний аналіз перехідного процесу здійснювався на основі суми БЕ і АЕ. Така модель забезпечувала задовільний опис перехідного процесу в межах часового проміжку 2–6 с. Отримані в експерименті траєкторії зміни довжини L було описано за допомогою рівнянь: $L = A \cdot (1 - k_1 \cdot \exp(-t/\tau_1) - k_2 \cdot \exp(-t/\tau_2))$ – для скорочення, $L = A \cdot (1 - k \cdot \exp(-t/\tau))$ – для подовження, де A – асимптотичне значення кінцевої довжини м'яза, $1-k$ – відносна вага БЕ, τ – константа часу перехідного процесу. Якість апроксимації була високою ($r^2 > 0,99$). Швидкість перехідного процесу знаходили за значенням першої похідної в початковий момент зміни довжини. Приклади апроксимації траєкторій зміни довжини м'яза внаслідок зменшення або збільшення

зовнішнього навантаження наведено на рис. 2. Подані траєкторії відповідають різним станам м'яза – контрольному (траєкторія 1) і тому, в якому P_0 зменшилося на 10 % внаслідок КСС (траєкторія 2). Для однакових відносних змін у зовнішньому навантаженні стомлений м'яз виявляв не лише зменшення швидкості скорочення (1,65 порівняно з 2,51 мм/с) і подовження (1,98 порівняно з 3,48 мм/с), але й збільшення обох констант часу АЕ перехідного процесу для скорочення і зменшення – при подовженні. Асимптотичні амплітуди цих перехідних процесів зменшувалися. Типові результати одного з експериментів наведено на рис. 3 (для траєкторій, отриманих у тестових серіях з рис. 1). Швидкість перехідного процесу зменшувалася після КСС, і крива швидкість – навантаження

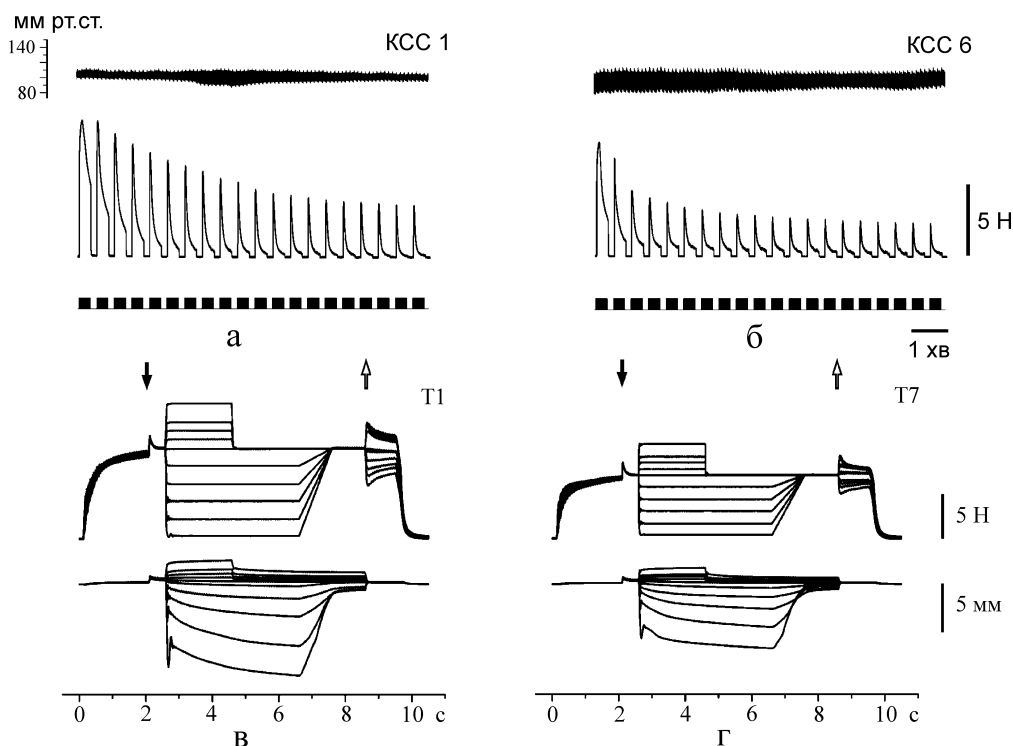


Рис. 1. Фрагменти стандартної експериментальної процедури: а, б – періоди кондиціонуючої стомлювальної стимуляції – першої (КСС1) та останньої (КСС6). Зверху вниз: запис артеріального тиску, сила ізометричних скорочень литкового м'яза, відмітки стимуляції вентрального коріння (ВК) S1, в, г – суперпозиція 10 тестових записів сили активного м'яза (зверху) і його довжини (знизу) в контролі (Т1) перед КСС1 і після КСС6 (Т7). Перехід від ізометричного до ізотонічного режиму і назад позначений стрілками, стимуляцію ВК L7, тривалість якої була 9,5 с, вмикали через 0,12 с після початку запису

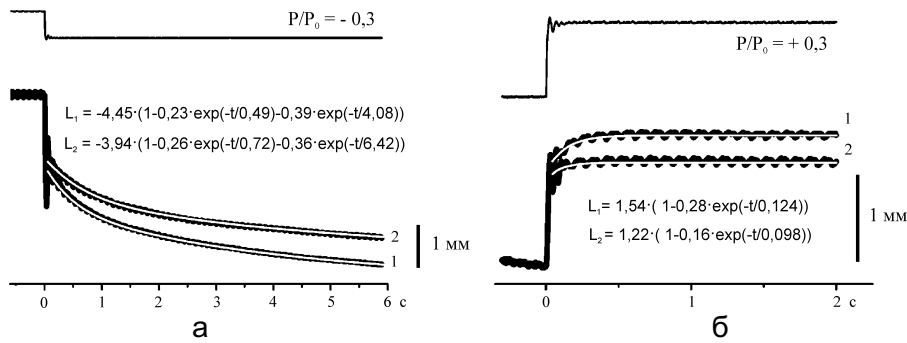


Рис. 2. Скорочення (а) і подовження (б) активного м'яза у відповідь на зміну зовнішнього навантаження: 1 – контроль, 2 – зменшення P_0 на 10% після кондиціонуєчої стимулювальної стимуляції. Апроксимації зображено білим кольором, їх рівняння подано для L_1 (траєкторія 1) та L_2 (траєкторія 2). Зверху – ступінчаста зміна зовнішнього навантаження

зсувалася вліво (див. рис. 3,а). Слід зазначити, що ділянка кривої, яка описувала швидкість скорочення для відносних рівнів

навантаження, а не для абсолютних, демонструвала зменшення швидкості лише для тих навантажень, які були значно меншими

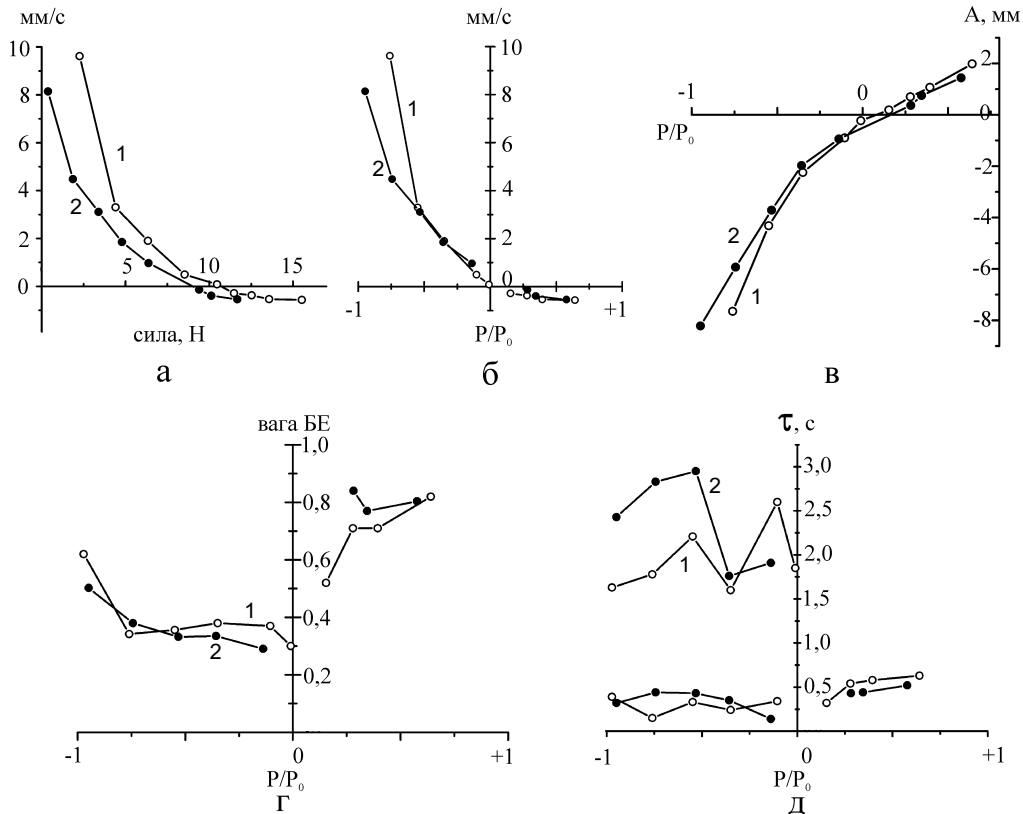


Рис. 3. Обчислені показники перехідних процесів скорочення та подовження м'яза, до та після КСС: а – криві сила – швидкість для абсолютних значень сили, б – для відносних значень: 1 – результати, отримані в контрольній серії Т1, 2 – в тестовій серії Т7. Негативні значення відносного рівня сили відповідають навантаженню меншому за P_0 , позитивні – більшому за P_0 , в – асимптотичні амплітуди перехідних процесів, позитивні значення – для подовження, негативні – для скорочення, г – відносна вага безінерційного елемента, д – константа часу аперіодичного елемента (для скорочення м'яза – дві константи)

за P_0 (див. рис. 3,б). Ділянка кривої, яка описувала швидкість подовження для відносних рівнів навантаження, відповідала відносно малому зменшенню швидкості подовження (рис. 3,б).

Асимптотичні значення амплітуд перехідних процесів зменшувалися після КСС не тільки для абсолютних значень навантаження, але й для відносних (див. рис. 3,в).

Після КСС спостерігали зменшення ваги БЕ (сума ваги БЕ і АЕ дорівнює 1, отже напрямок змін для ваги АЕ буде протилежним) для відносних рівнів зовнішнього навантаження при скороченні, і збільшення – при подовженні м'яза (див. рис. 3,г). Спостерігали різноспрямовані зміни для констант часу АЕ: тенденцію до збільшення після КСС для скорочення і тенденцію до зменшення для подовження м'яза (див. рис. 3,д).

Слід зазначити, що КСС одних популяцій м'язових волокон не завжди викликала повний спектр змін показників перехідного процесу для інших популяцій м'язових волокон у разі встановлення нової довжини м'яза при ступінчастій зміні зовнішнього навантаження. В таблиці представлено результат попарних порівнянь констант, що відповідали однаковим відносним рівням навантаження в контролі і після КСС (відібрано 43 пари перехідних процесів – для скорочення, 25 пар – для подовження, відносні рівні навантаження відрізнялися не більше, ніж на 1 %). Траплялось, що при скороченні збільшувалася тільки одна з констант часу АЕ, або зменшувалася лише

вага БЕ при незначних коливаннях значень констант часу. Те саме могли спостерігати і для подовження, коли змінювалися лише один чи два показники з трьох (асимптотична амплітуда, постійна часу, вага БЕ), можливо, внаслідок неоднорідного складу м'яза.

ОБГОВОРЕННЯ

Активація литкового м'яза електричною стимуляцією аксонів, які йдуть у складі ВК L7 дозволила створити тестування тих моторних одиниць, які не були активовані під час КСС (коли здійснювалася стимуляція тих моторних одиниць, чії аксони були у складі ВК S1). Коротка тривалість тестів і великі паузи між тестами дозволяють вважати, що зменшення P_0 і швидкості скорочення/подовження відбувалося внаслідок змін у метаболітному складі інтерстиціального середовища м'яза. Змішане розташування волокон різних моторних одиниць, яке є характерним для литкового м'яза kota [3], було основою для змін у роботі м'язових волокон, сусідніх зі стомленими [9]. Вивільнення K^+ в інтерстицій внаслідок тривалого скорочення [5] одних моторних одиниць буде причиною зменшення мембранного потенціалу м'язових волокон, що належать до інших моторних одиниць, а отже – зменшення ПД, що розповсюджується [14]. Зменшення кількості Ca^{2+} , який вивільнюється при надходженні такого ПД [12, 13] зумовлює зменшення кількості сформованих акти-

Зміни швидкості й констант, які описують перехідний процес після кондиціонуючої стомлювальної стимуляції порівняно з контролем (кількість випадків у відсотках)

Показник	Скорочення			Подовження		
	збільшення	зменшення	незмінність	збільшення	зменшення	незмінність
Швидкість	30	52	18	24	64	12
Амплітуда	40	43	17	35	60	5
Константи часу						
τ_1	78	16	6	17	71	12
τ_2	80	17	3	-	-	-
Вага безінерційного елемента	16	66	18	75	8	17

номіозинних містків, що означає погіршення скорочувальної функції м'яза.

Зменшення швидкості скорочення/подовження м'яза відбувалося внаслідок певних змін характеристик цих перехідних процесів, залежно від напрямку руху: збільшенням константи часу АЕ – для скорочення, збільшенням ваги БЕ – для подовження, і зменшенням асимптотичної амплітуди для обох напрямків. Взагалі, саме такі зміни для констант часу АЕ і ваги БЕ для обох напрямків перехідного процесу, отримані в даному дослідженні, характерні для великих рівнів зовнішнього навантаження [6].

Принаймні, що стосується скорочення, існує модель [11], яка описує залежність швидкості скорочення від рівня зовнішнього навантаження і пропонує два шляхи, згідно з якими працюють актиноміозинні містки: для великих швидкостей при малих навантаженнях – великий робочий „крок” міозинних голівок з великим коефіцієнтом корисної дії (ККД), для малих швидкостей при великих навантаженнях – короткий „крок” з малим ККД. Зменшення ККД, яке спостерігали роботи актиноміозинних містків, при розвитку втоми [2] дозволяє зробити припущення про перехід до скорочення з „малим кроком”. Цим можна пояснити і збільшення часу досягнення кінцевої довжини м'яза, який скорочується, що ми і показали.

При подовженні м'яза, опір до зовнішнього навантаження, більшого за P_0 , зменшується зі зменшенням кількості актиноміозинних містків, а, отже, відбувається і більш швидке встановлення нової довжини, що зумовлюється рівновагою між фракціями містків, які від'єднуються внаслідок тягнучої сили навантаження або внаслідок завершення робочого циклу.

Окрім того, зміни у кількості актиноміозинних містків у відповідь на зменшення/збільшення зовнішнього навантаження можуть залежати від ступеня релаксації/активації еластичного елемента м'яза. При

розвитку тетанічного зусилля P_0 відбувається розтягання послідовного еластичного компонента м'яза [1]. Після КСС, коли P_0 зменшується, еластичний елемент залучається менше, а значить і релаксує/активується меншою мірою. Це в свою чергу, зменшує різницю в механічній жорсткості актину [10] до подання ступінчастої зміни зовнішнього навантаження і після, а значить й коливання у зменшенні/збільшенні спорідненості тропоніну С до Ca^{2+} , яка залежить від напрямку зміни довжини відповідно при скороченні/подовженні [1, 4]. Отже, за рівних відносних ступінчастих змінах зовнішнього навантаження ($\Delta P/P_0$) кількість Ca^{2+} , яка вивільниться при скороченні або додатково приєднається при подовженні зменшиться, а значить зменшиться й коливання у кількості містків порівняно з контрольним станом, що і може бути причиною зменшення/збільшення відносної ваги БЕ.

ВИСНОВКИ

Метаболічні зміни в інтерстиції м'яза, що виникають при роботі одних моторних одиниць, викликають зміни в скорочувальних властивостях інших, які до цього часу були неактивні. Окрім зменшення сили, спостерігали зменшення швидкості подовження та скорочення. При цьому перехідні процеси змін довжини м'яза на навантаження та розвантаження суттєво залежали від напрямку руху: константи часу і ваги АЕ перехідних процесів зростали при скороченні м'яза і зменшувалися при його подовженні.

Це дослідження було виконано за підтримки гранту INTAS 01-2130.

L.A. Bugaychenko

EFFECTS OF FATIGUE ON THE MUSCLE REACTIONS TO CHANGES IN THE EXTERNAL LOAD

Spreading of fatigue-related effects from active to inactive parts in the cat gastrocnemius muscle was studied. Fatiguing

contractions of a part of gastrocnemius muscle were evoked through stimulation of the cut ventral root (VR) S1 with rate 50 s^{-1} during 20 s followed by 10 s of rest, over 10–30 min (CFS). To test activation of a non-active part of this muscle the distributed stimulation of dissected VR L7 with rate of 10 s^{-1} per filament was applied. After achieving by the muscle a steady-state level of isometric contraction, a quick transition to isotonic condition was produced. Transient responses of shortening and lengthening were analyzed in terms of the two-component model including the fast inertialess and slow aperiodic components. Test duration was 12 s, time intervals between tests consisted of 3 min. CFS reduced isometric force of the tested part of muscle as well as the velocity of shortening and lengthening. The muscle lengthening had been slowing down with development of the fatigue effects; the final steady value of the muscle length in transients was reduced, while weight of the inertialess component increased. Slowing of shortening was accompanied by reduction of the final length amplitude and the time constants of aperiodic component were increased. We suppose that diffusion of metabolites from active to inactive muscle fibers was the major reason for contractility deterioration.

This study was supported by the INTAS grant 01-2130.

A.A. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гурфинкель В. С., Левик Ю. С. Скелетная мышца: структура и функция. – М.: Наука, 1985. – 144 с.
2. Barclay C.J. Mechanical efficiency and fatigue of fast and slow muscle of the mouse // *J. Physiol.* – 1996. – **497**. – P. 781–794.
3. Burke R.E. Motor units: anatomy, physiology and functional organization. – In *Handbook of physiology. The nervous system. Motor control* / Ed. Brookhart J.M., Mountcastle V.B. – Bethesda, Md.: Amer.

- Physiol. Soc, 1981. – P. 345–422.
4. Gordon A.M., Ridgway E.B. Cross-bridges affect both TnC structure and calcium affinity in muscle fibers // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1993. – **332**. – P. 183–194.
5. Juel C., Bangsbo J., Graham T., Saltin B. Lactate and potassium fluxes from human skeletal muscle during and after intense, dynamic, knee extensor exercise // *Acta Physiol. Scand.* – 1990. – **140**. – P. 147–159.
6. Kostyukov A.I. Muscle dynamics: dependence of muscle length on changes in external load // *Biol. Cybern.* – 1987. – **56**. – P. 375–387.
7. Kostyukov A.I., Day S., Hellstrom F. et al. Fatigue-related changes in electromyogram activity of cat gastrocnemius during frequency-modulated efferent stimulation // *Neurosci.* – 2000. – **97**. – P. 801–809.
8. Kostyukov A.I., Hellstrom F., Korchak O.E. et al. Fatigue effects in the cat gastrocnemius during frequency-modulated efferent stimulation // *Ibid.* – 2000. – **97**. – P. 789–799.
9. Kostyukov A.I., Kalezic I., Serenko S.G. et al. Spreading of fatigue-related effects from active to inactive parts in the medial gastrocnemius muscle of the cat // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 2002. – **86**. – P. 295–307.
10. Kostyukov A.I., Korchak O.E. Length changes cat soleus muscle under frequency-modulated distributed stimulation efferents in isotony // *Neurosci.* – 1998. – **82**. – P. 943–955.
11. Piazzesi G., Lombardi V. A cross-bridge model that is able to explain mechanical and energetic properties of shortening muscle // *Biophys. J.* – 1995. – **68**. – P. 1966–1979.
12. Sjogaard G. Potassium and fatigue: the pros and cons // *Acta Physiol. Scand.* – 1996. – **156**. – P. 257–264.
13. Sjogaard G., McComas A.J. Role of interstitial potassium // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1995. – **384**. – P. 69–80.
14. West W., Hicks A., McKelvie R., O'Brien J. The relationship between plasma potassium, muscle membrane excitability and force following quadriceps fatigue // *Pflug. Arch.* – 1996. – **432**. – P. 43–49.

Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ

Матеріал надійшов до редакції 29.03.2004