

МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ПРИ ТРАВМАТИЧНОМУ УШКОДЖЕННІ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ТА АУТОПЛАСТИЦІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

В. В. Гайович, А. М. Магомедов, О. М. Макаренко, С. І. Савосько

Інститут травматології та ортопедії НАМН України,
Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України, м. Київ

METABOLIC CHANGES OF SKELETAL MUSCLES IN TRAUMATIC INJURY OF PERIPHERAL NERVE AND AUTOPLASTY IN EXPERIMENT

V. V. Gayovych, A. M. Magomedov, O. M. Makarenko, S. I. Savohsko

Institute of Traumatology and Orthopedy of National Academy of Medical Sciences of Ukraine,
Bogomolets National Medical University of Ministry of Health of Ukraine, Kyiv

Пошкодження периферійних нервів верхніх і нижніх кінцівок є однією з складних проблем реконструктивної хірургії. Незважаючи на використання мікрохірургічної техніки під час їх відновлення, локомоторна функція кінцівки після такої травми часто залишається незадовільною. При цьому репаративні можливості скелетних м'язів суттєво різняться від таких травмованих кісток і нервів [1, 2].

У зв'язку з цим саме функціональний стан скелетних м'язів вважають лімітуючим фактором ефективного лікування та реабілітації хворих ортопедотравматологічного профілю [3 – 6].

Функціональні можливості скелетних м'язів залежать від їх структурно—функціональних особливостей і визначаються особливостями тканинного обміну, насамперед, характером енергозабезпечення [7 – 9]. У скелетних м'язах метаболічні процеси жорстко контролюються системними і локальними чинниками, проте, в умовах їх травматичного ушкодження в них виявляють значну пластичність метаболізму [9 – 12]. У зв'язку з цим функціональне відновлення м'язів у посттравматичному періоді залежить не лише від інтенсивності відновлення їх структурно—метаболічних характеристик, воно має бути забезпечене ефективною реіннервацією. Проте, недостатня кількість даних з біохімії

Реферат

В експериментальному дослідженні вивчені зміни обміну амінокислот, ферментів, електролітів, жирних кислот (ЖК) у скелетних м'язах передніх і задніх кінцівок щурів при значних дефектах периферійного нерва та його аутопластиці. Метаболічні зміни у скелетних м'язах супроводжуються значною інтенсивністю протеолізу, зниженням активності ферментів, енергетичного обміну і, меншою мірою, балансу електролітів і обміну ЖК. Після аутопластики великих дефектів травмованого нерва маркерами відновлення м'язової тканини є синтез протеїнів і відновлення активності лактатдегідрогенази (ЛДГ) і креатинфосфокінази (КФК). Хірургічне відновлення нерва супроводжується активацією синтезу білка у м'язах, проте, нормалізацію показників ферментних систем, обміну ліпідів та балансу електролітів не спостерігали. Метаболічний дисбаланс потребує відповідної фармакологічної корекції та попередження прогресування патологічного процесу в скелетних м'язах.

Ключові слова: травма нерва; скелетні м'язи; біохімія; метаболізм; дистрофія; відновлення; аутопластика; експеримент.

Abstract

The changes in metabolism of the amine acids, enzymes, electrolytes, fat acids (FA) in skeletal muscles of anterior and posterior extremities of rats in significant defects of peripheral nerve and its autoplasty were studied in experimental investigation. Metabolic changes in skeletal muscles are accompanied by significant intensity of proteolysis, lowering of the enzymes activity, energetic metabolism and in a less extent — of the electrolytes balance and the FA metabolism. After autoplasty of big defects in the traumatized nerve the proteins' synthesis and restoration of activity of lactate dehydrogenase and creatine phosphokinase constitute the markers of muscular tissue restoration. Surgical restoration of the nerve is accompanied by a protein synthesis activation in muscles, but normalization of the enzyme systems indices, the lipids metabolism and the electrolytes balance was not observed. Metabolic dysbalance needs a certain pharmacological correction and prevention of a progress of pathological process in skeletal muscles.

Keywords: the nerve trauma; skeletal muscles; biochemistry; metabolism; dystrophy; restoration; autoplasty; experiment.

травмованих м'язів верхніх і нижніх кінцівок не дозволяє зробити обґрунтовані висновки про доцільність застосування відповідної корекції метаболічних змін, спрямованих на відновлення скелетних м'язів, при травматичному ушкодженні периферійних нервів.

Мета дослідження: вивчити особливості системних проявів метаболічних порушень в скелетних м'язах передніх і задніх кінцівок, оцінити можливості їх регуляції при травматичному ушкодженні та аутопластиці периферійних нервів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проведені на 36 білих нелінійних щурах—самцях масою тіла 200—215 г. Тварини розподілені на 4 групи: 1—ша група — інтактні (n=5); 2—га група — невротомія сідничного нерва (n. ischiadicus, n=8); 3—тя група — невротомія середнього нерва (n. medianus, n=8); 4—та і 5—та групи — невротомія і нейрорафія діастазу (кінець в кінець) з використанням фрагмента відповідного нерва передньої (n=8) і задньої (n=8) кінцівки довжиною 1 см (аутопластика). Всі оперативні втручання виконані під відповідною премедикацією (тіопентал—натрій, 60 мг/кг, внутрішньоочеревино). У середньо—верхній третині передньої і задньої кінцівок щура розсікали м'які тканини, виділяли серединний і сідничний нерви. Нейрорафію здійснювали з використанням стерильного шовного матеріалу (пролен або етилон 8/0 на атравматичній голці) фірми "Ethicon" (Шотландія). Після цього рану зрошували розчином антибіотиків (біцилін—3, "Київмедпрепарат") і зашивали наглухо. Рани у тварин загоювались первинним натягом. Тварин тримали у віварію на звичайному раціоні. Всі маніпуляції проводили з дотриманням існуючих норм біоетики [13].

Через 1 міс після операції у щурів під наркозом тіопентал—натрієм видаляли скелетні м'язи і готували для біохімічного дослідження. Окремо досліджували скелетні м'язи іпси— та контралатеральних передньої і задньої кінцівок.

Для визначення активності ЛДГ і КФК використовували тест—системи "Реагент" (Україна) і "Пліва—Ла-

хема" (Чехія). Фракційний склад білків вивчали за модифікованим методом електрофорезу у поліакриламідному гелі [14], склад амінокислот — за методом S. Moor [15]. Вміст електролітів визначали на автоматичному аналізаторі Easy Lyte Calcium (Medica, США) з використанням реактивів фірми "Medica" (Нідерланди). Отримані результати порівнювали за непараметричним U—критерієм Манна—Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Зміни вмісту амінокислот у скелетних м'язах після аутопластики травмованого нерва. Через 1 міс після моделювання проксимального ушкодження периферійного нерва встановлене зменшення загальної кількості білків у скелетних м'язах, в тому числі зв'язаних на 9,8% — в передній кінцівці ($U_{\text{емп}}=2$; $U_{\text{кр}}=3$, $p<0,01$; $U_{\text{кр}}=6$, $p<0,05$) і на 34,7% — у задній кінцівці ($U_{\text{емп}}=0$; $U_{\text{кр}}=1$, $p<0,01$; $U_{\text{кр}}=7$, $p<0,05$) (табл. 1). Поряд з цим рівень вільних амінокислот у м'язах передніх кінцівок збільшився на 5,1% ($U_{\text{емп}}=2$; $U_{\text{кр}}=1$, $p<0,01$; $U_{\text{кр}}=5$, $p<0,05$).

У щурів, яким здійснювали аутопластику травмованого нерва, вста-

новлене значне зменшення вмісту вільних амінокислот в передніх і задніх кінцівках майже на 77% ($p<0,05$), збільшення вмісту зв'язаних амінокислот лише в задніх кінцівках на 43,2% ($U_{\text{емп}}=0$; $U_{\text{кр}}=1$, $p<0,01$; $U_{\text{кр}}=7$, $p<0,05$).

Збільшення вмісту вільних амінокислот у м'язовій тканині зумовлене прогресуючими процесами протеолізу, його значне зменшення після аутопластики — залученням до синтезу структурних і функціональних протеїнів.

Зміни активності ферментів енергетичного обміну в м'язах і плазмі крові після травми периферійного нерва та аутопластики. У щурів усіх груп встановлене зменшення активності ЛДГ в плазмі крові і особливо — у м'язах задніх кінцівок — у середньому на 45,7%, у передніх кінцівках — на 19,6%. Активність КФК зменшувалася у м'язах задніх кінцівок у середньому на 54% ($U_{\text{емп}}=7$; $U_{\text{кр}}=5$, $p<0,01$; $U_{\text{кр}}=9$, $p<0,05$), відзначено тенденцію до її підвищення у плазмі крові.

Після аутопластики достовірної різниці змін активності ЛДГ у порівнянні з такими після невротомії не було. Виявлена тенденція до збіль-

Таблиця 1. Вміст амінокислот у м'язах при ушкодженні периферійного нерва

Кінцівка	Контроль	Невротомія	Невротомія з аутопластикою
Рівень зв'язаних амінокислот у м'язах, мкг/г ($\bar{x} \pm m$)			
Передня	310,5 ± 2,4	280,0 ± 2,7*	246,0 ± 2,6*
Задня	305,5 ± 2,6	199,2 ± 2,5*	285,3 ± 2,7* [∇]
Рівень вільних амінокислот у м'язах, мкг/г ($\bar{x} \pm m$)			
Передня	4735,73 ± 4,9	4997,1 ± 3,2*	1190,86 ± 3,4* [∇]
Задня	5546,1 ± 4,9	5683,5 ± 3,2	1196,83 ± 3,4* [∇]
<i>Примітка.</i> Різниця показників достовірна у порівнянні з такими: * — в інтактних щурів; [∇] — після невротомії ($p<0,05$). Теж у табл. 2, 3.			

Таблиця 2. Зміни активності ферментів у м'язах і плазмі крові у щурів після травмування периферійного нерва

Група	Кінцівка	Активність ферментів, Од/л ($\bar{x} \pm m$)			
		у крові		у м'язах	
		ЛДГ	КФК	ЛДГ	КФК
Контроль	Передня	400,6 ± 16,9	110,6 ± 16,9	16,20 ± 3,4	671,5 ± 23,7
	Задня			10,1 ± 4,4	642,9 ± 21,9
Невротомія	Передня	321,4 ± 41,7*	119,3 ± 40,9	2,40 ± 0,3*	587,7 ± 45,1*
	Задня	216,9 ± 30,4*	49,2 ± 18,5*	4,52 ± 1,9*	705,5 ± 55,3
Невротомія з аутопластикою	Передня	252,5 ± 51,5*	167,6 ± 140,5	2,36 ± 0,4*	577,1 ± 21,1*
	Задня	297,3 ± 35,6*	165,3 ± 18,4 [∇]	5,16 ± 2,9*	663,8 ± 47,3

Таблиця 3. Зміни вмісту електролітів в м'язах і плазмі крові після травми периферійного нерва

Група	Кінцівка	Вміст електролітів, ммоль/л ($\bar{x} \pm m$)					
		у крові			у м'язах		
		Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺
Контроль	Передня	144,4 ± 2,0	5,59 ± 0,4	1,25 ± 0,0	9,56 ± 0,2	6,34 ± 0,2	0,24 ± 0,0
	Задня				9,60 ± 0,1	5,60 ± 0,3	0,24 ± 0,0
Невротомія	Передня	136,0 ± 1,0*	4,47 ± 0,4	1,28 ± 0,0	8,85 ± 0,5	6,10 ± 0,4	0,24 ± 0,0
	Задня	139 ± 1,4*	3,86 ± 0,3*	1,32 ± 0,0*	10,00 ± 0,4	5,22 ± 0,5	0,24 ± 0,0
Невротомія з аутопластикой	Передня	134,9 ± 0,8*	4,48 ± 0,2	1,28 ± 0,0	9,20 ± 0,6	5,6 ± 0,4	0,24 ± 0,0
	Задня	142,1 ± 0,3*	4,45 ± 0,0*	1,23 ± 0,0	9,73 ± 0,2	6,34 ± 0,2	0,24 ± 0,0

шення активності ферментів у м'язах задньої кінцівки.

Встановлене підвищення активності КФК у 3,3 разу в плазмі крові після аутопластики, у м'язовій тканині статистично значущої різниці не було (табл. 2).

Зміни вмісту електролітів у м'язах і плазмі крові після травми периферійного нерва. Рівень електролітів у скелетних м'язах дослідних тварин достовірно не різнився від такого в інтактних тварин, лише в крові щурів при травмі сідничого нерва виявляли незначне зменшення рівня Na⁺ і K⁺ та збільшення — рівня Ca²⁺. Після аутопластики відзначено нормалізацію рівня Ca²⁺ в плазмі крові щурів обох дослідних груп, Na⁺ — лише у тварин після невротомії сідничого нерва (табл. 3)

Зміни обміну ЖК після травми периферійного нерва. За високого травматичного ушкодження периферійного нерва у скелетних м'язах передніх і задніх кінцівок щурів відбувається перерозподіл насичених і ненасичених ЖК. В м'язах передніх кінцівок зменшується рівень коротколанцюгових насичених ЖК С4, С6, С10, С11, в задніх кінцівках — зменшується вміст насичених С10, С11, С20 і ненасичених С18:2нбс і С20:1 ЖК. Одночасно виявлене незначне підвищення рівня насичених С13, С14, С17 і ненасичених С14:1, С16:1, С18:1 і С18:2 ЖК. При цьому загальний вміст коротколанцюгових ЖК, насичених і ненасичених, їх довголанцюгових типів не відрізнявся від такого в інтактних тварин. Перерозподіл ЖК в бік довголанцюгових насичених і ненасичених ЖК можна пояснити активацією їх синтезу з коротких С4 — С11 фраг-

ментів на тлі травматичного ушкодження та гіподинамії.

Після аутопластики ушкодженого нерва спостерігали лише тенденцію до відновлення рівня коротколанцюгових насичених ЖК (С4—С13), зменшення вмісту міристоолеїнової і збільшення вмісту ейкозанової кислот, а також окремих метаболічних форм ліноленової кислоти, проте, в цілому ці зміни суттєво не відрізнялись від таких після невротомії без аутопластики.

Таким чином, при травматичному ушкодженні периферійного нерва у скелетних м'язах виникають структурні та метаболічні зміни, в основі яких є розділення процесів окисного фосфорилування енергетичних субстратів, що супроводжується змінами балансу електролітів та амінокислот, протеолізу структурних і функціональних білків м'язів, темпи якого більшою мірою прогресують у м'язах задніх кінцівок. У денервованих та травмованих м'язах відбуваються атрофічні процеси, що супроводжуються прогресуючим протеолізом і виходом білків, зокрема, міоглобіну, з м'язів у системний кровоток. На тлі енергетичної дисфункції в м'язах зменшується синтез макроергічних сполук, насамперед, АТФ і креатинфосфату, проте, збільшується вміст їх нефосфорильованих форм, тобто, АДФ і креатину, що є діагностичним маркером метаболічної дисфункції скелетних м'язів, зокрема, появиває креатинурії [8]. У проведеному експериментальному дослідженні підтверджене положення про порушення утворення креатинфосфату, маркером якого є зниження активності КФК.

Іншим важливим маркером метаболічної дисфункції та темпів відновлення є активність ЛДГ. За адекватної оксигенації лактат у м'язах і крові не накопичується, а метаболізується у циклі Кребса, проте, в умовах гіпоксії — активно накопичується, що спричиняє порушення процесів тканинного дихання. Це, в свою чергу, генерує утворення активних форм кисню (вільних радикалів), що окиснюють білки, вуглеводи і ліпіди м'язових волокон, загострюючи атрофічні процеси. Зменшення активності ЛДГ у м'язах на тлі травми периферійного нерва, ймовірно, зумовлене енергетичним дефіцитом та порушенням четвертинної структури і функції ферментів на тлі лактат—ацидозу [16 — 18]. Поряд з цим порушується енергозалежний обмін електролітів та ЖК.

Основним методом лікування травмованого нерва є хірургічне відновлення його цілісності, зокрема, шляхом аутопластики. Проте, великий клінічний досвід застосування цього методу свідчить про існування деяких недоліків, зокрема, небезпеку некрозу нервових трансплантатів до того, як відбудеться їх реваскуляризація, прогресування атрофії м'язів [19].

На підставі аналізу результатів експериментальних досліджень встановлено, що при аутопластиці периферійного нерва скелетні м'язи відновлюються лише частково, проявом чого є активація синтезу протеїнів. При цьому відзначають відновлення обміну амінокислот, і частково — активності ферментів—маркерів у плазмі крові. При цьому баланс електролітів і ЖК не є маркером відновного процесу і суттєво

змінюється у тварин в умовах пост-травматичної гіподинамії.

ВИСНОВКИ

1. Високе травматичне ушкодження периферійних нервів з великими дефектами супроводжується виникненням структурних і метаболічних змін у скелетних м'язах. В денервованих м'язах формуються процеси протеолізу і метаболічної дисфункції, в основі яких є роз'єднання окиснення та фосфорилування субстратів енергетичного обміну, маркерами чого є зміни активності ЛДГ, КФК, перерозподіл вільних і зв'язаних амінокислот.

2. В м'язовій і жировій тканині травмованих кінцівок відбувається перерозподіл ЖК в бік їх довголанцюгових форм. Зміни балансу електролітів виявляли лише в крові щурів на тлі травми нервів задніх кінцівок, при цьому обмін ЖК і основних катіонів (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) не є маркером відновного процесу.

3. Після аутопластики великих дефектів травмованого нерва у скелетних м'язах відбуваються активні відновні процеси, основним маркерами яких є перехід вільних протеїногенних амінокислот у зв'язані форми. Проте, відновлення активності ферментних систем у скелет-

них м'язах, балансу ліпідів та електролітів не спостерігають, що може бути передумовою прогресування патологічних змін у денервованих м'язах, особливо за неефективної аутопластики периферійного нерва.

4. Хірургічне відновлення травматично ушкодженого периферійного нерва супроводжується активацією анаболічних процесів у денервованих м'язах, проте, метаболічний дисбаланс потребує відповідної фармакологічної корекції та попередження прогресування патологічного процесу у скелетних м'язах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Креатин как метаболический модулятор структуры и функции скелетных мышц при силовой тренировке у человека: эргогенные и метаболические эффекты / А. И. Нетреба, Б. С. Шенкман, О. С. Тарасова [и др.] // Рос. физиол. журн. — 2006. — № 1. — С. 113 — 122.
2. Креатин как метаболический модулятор структуры и функции скелетных мышц при силовой тренировке у человека. Клеточные механизмы / Б. С. Шенкман, К. С. Литвинова, Н. М. Гасникова [и др.] // Там же. — С. 100 — 112.
3. Шенкман Б. С. Структурно—метаболическая пластичность скелетных мышц млекопитающих в условиях гипокинезии и невесомости / Б. С. Шенкман // Авиакосм. и экол. медицина. — 2002. — № 3. — С. 3 — 13.
4. Щуров В. А. Особенности кислородного режима в тканях при оперативном удлинении конечности / В. А. Щуров, Н. В. Сазонова, Е. В. Николайчук // Гений ортопедии. — 2001. — № 2. — С. 55 — 58.
5. Щуров И. В. Полярографический контроль кровоснабжения тканей при лечении переломов костей голени / И. В. Щуров, С. П. Бойчук, В. А. Щуров // Там же. — 2008. — № 2. — С. 13 — 15.
6. Эделева Н. К. Реакция скелетных мышц и эндокринных органов на ограничение двигательной активности / Н. К. Эделева, Н. И. Петрова, И. Г. Стельникова // Морфология. — 1998. — № 3. — С. 136.
7. Acevedo L. M. New insights into skeletal muscle fibre types in the dog with particular focus towards hybrid myosin phenotypes / L. M. Acevedo, J. L. Rivero // Cell Tissue Res. — 2006. — Vol. 323, N 2. — P. 283 — 303.
8. Rawson E.S. The effects of creatine supplementation on exercise—induced muscle damage / E. S. Rawson, B. Gunn, P. M. Clarkson // J. Strength. Cond. Res. — 2001. — Vol. 15, N 2. — P. 178 — 184.
9. Regulation of skeletal muscle proteolysis by amino acids / D. Bechet, A. Tassa, L. Combaret [et al.] // J. Ren. Nutr. — 2005. — Vol. 15, N 1. — P. 18 — 22.
10. Recovery of contractile and metabolic— phenotypes in regenerating slow muscle after notexin—induced or crush injury / E. Fink, D. Fortin, B. Serrurier [et al.] // J. Muscle Res. Cell. Motil. — 2003. — Vol. 24, N 7. — P. 421 — 429.
11. Regulation of cardiac and skeletal muscle protein synthesis by individual branched—chain amino acids in neonatal pigs / J. Escobar, J. W. Frank, A. Suryawan [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2006. — Vol. 290, N 4. — P. 612 — 621.
12. Samchukov M. Birch mechanism of skeletal muscle adaptation to gradually increasing length / M. Samchukov, A. Makarov, J. Cherkashin // 2nd International Meeting of ASAMI. — Roma: Scientific Abstracts, 2001. — P. 73.
13. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. — Washington, D. C.: Nat. Acad. Press, 1996. — 136 p.
14. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // Nature. — 1970. — Vol. 227. — P. 680 — 685.
15. Moor S. The chromatographic of aminoacids on sulfonated polystyrenesins / S. Moor, W. H. Stein // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 192. — P. 2830 — 2839.
16. Skeletal muscle fiber type conversion during the repair of mouse soleus: potential implications for muscle healing after injury / T. Matsuura, Y. Li, J. P. Giacobino [et al.] // J. Orthop. Res. — 2007. — Vol. 25, N 11. — P. 1534 — 1540.
17. The histobiochemical effects of melatonin on ischemia reperfusion—related injuries in vascular trauma of lower limbs / R. Sobhani, H. Masoudpour, M. Akbari [et al.] // Ann. Ital. Chir. — 2012. — Vol. 83, N 1. — P. 49 — 54.
18. Ting J. Y. Acute severe non—traumatic muscle injury following reperfusion surgery for acute aortic occlusion: case report / J. Y. Ting, A. Dehdary // Int. J. Emerg. Med. — 2011. — Vol. 4, N 1. — P. 20.
19. Кубицкий А. А. Хирургическое лечение поврежденных периферических нервов верхней конечности методами тракционного удлинения и аутонервной пластики: автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.00.27 / А. А. Кубицкий. — Казань, 2002. — 18 с.

