

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕАКЦИЙ МЫШЦ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ КРЫС ПОСЛЕ ОДНОСТОРОННЕЙ КОМПРЕССИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА И СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ ГАММА-ГИДРОКСИБУТИРАТА

Поступила 02.08.13

Проведен сравнительный анализ силовой активности мышц (разгибателей и сгибателей стопы и сгибателей пальцев задних конечностей) крыс на протяжении периода системного введения натрия гамма-гидроксibuтирата – ГГОБ (100 мг/кг, внутривбрюшинно, ежедневно в течение четырех недель) после унилатерального передавливания седалищного нерва (СН). Анализировали также отдаленные эффекты после введения препарата (10-я и 12-я недели после операции). Силу сокращения мышц определяли с помощью тензометрических устройств. В контрольной группе животным СН также передавливали, но ГГОБ не вводили. В экспериментальной группе спустя неделю после операции у мышц на стороне передавливания нерва была выражена заметная функциональная потеря (20–24 %), тогда как на противоположной стороне наблюдался функциональный прирост (60–17 %). Начиная со второй по четвертую неделю введения ГГОБ травмированная конечность реагировала стойким приростом силы и у мышц-разгибателей, и у сгибателей (соответственно в два-два с половиной раза и на 20–50 %), тогда как прирост силы сокращений мышц контралатеральной конечности (30–40 %) не зависел от функционального назначения мышц. В отдаленные сроки (10-я и 12-я недели) после операции сила сокращений мышц травмированной и контралатеральной конечностей увеличивалась максимально на 30–40 % по сравнению с контролем, причем данный прирост на травмированной конечности наблюдался у разгибателей, а на контралатеральной – у сгибателей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: натрия гамма-гидроксibuтират (ГГОБ), компрессия седалищного нерва (СН), мышечная сила.

ВВЕДЕНИЕ

Натриевая соль гамма-гидроксимасляной кислоты (ГГОМК) – натрия гамма-гидроксibuтират (ГГОБ) – является близким структурным аналогом гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) – основного тормозного нейротрансмиттера в ЦНС [1, 2]. Было установлено, что ГГОМК, будучи тормозным нейротрансмиттером, одновременно ускоряет функциональное восстановление поврежденных нервно-мышечных структур после травмы. Одним из возможных механизмов этого эффекта является то, что как ГГОМК, так и ГАМК способны обуславливать длительное увеличение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} именно в поврежденных нейронах и способствовать процессам посттравматического

восстановления в структурах ЦНС.

Ранее мы обнаружили [4], что системное введение натрия ГГОБ крысам после унилатерального травмирования седалищного нерва (СН) ускоряет восстановление силы произвольных сокращений мышц на стороне повреждения, параллельно обеспечивая повышение данного показателя у мышц интактной контралатеральной конечности. При этом полное восстановление силы сокращений мышц травмированной конечности в условиях системного введения ГГОБ происходило раньше (у сгибателей – на третьей, а у разгибателей – на четвертой неделе после травмы нерва), чем в контроле (соответственно на 10-й и 12-й неделях).

Поскольку нервно-мышечный аппарат интактной конечности также проявлял чувствительность к стимулирующему действию ГГОБ, в настоящей работе мы пытались выявить наличие или отсутствие избирательности натрия ГГОБ по отношению

¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины» (Украина).
Эл. почта: tatiana_mashko@mail.ru (Т. В. Демченко).

к травмированным структурам, проводя сравнительный анализ силовых реакций мышц травмированной и контралатеральной конечностей у крыс на протяжении всего периода системного введения препарата и после его прекращения в условиях травмирования (компрессии) СН. Кроме того, мы обратили внимание на закономерности изменений сократительной силовой активности у функционально различных мышц голени и стопы (разгибателей и сгибателей лодыжки и сгибателей пальцев) обеих конечностей.

МЕТОДИКА

Эксперименты были выполнены на взрослых белых крысах-самцах линии Вистар ($n = 12$, масса тела 200–220 г), которым предварительно передавливали правый СН (методика была описана ранее [5]); СН левой конечности оставался интактным. Контролем служила группа животных, которым ГГОБ не вводили; анализировали динамику восстановления силы сокращения мышц-сгибателей пальцев и сгибателей и разгибателей лодыжки в сроки с первой по четвертую недели, а также на 10-ю и 12-ю недели после передавливания нерва. В экспериментальной группе исследовали влияния системного введения ГГОБ (внутрибрюшинно, ежедневно в дозе 100 мг/кг в течение четырех недель после операции) на те же показатели функциональной активности упомянутых мышц задних конечностей на ранних (в течение четырех недель в конце каждой недели спустя 24 ч после каждого введения перед последующим) и поздних (10-я и 12-я недели) сроках после операции.

Для оценки функциональной активности мышц определяли силу сокращений с применением тензометрической методики [4, 5]. Числовые результаты обрабатывали статистически с помощью программы «Statplus», рассчитывая средние арифметические и ошибки средних. Учитывая результаты проверки нормальности распределений полученных значений, при межгрупповом сравнении использовали критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В конце первой недели после операции и системного введения ГГОБ усилия, развиваемые мышцами-разгибателями и сгибателями травмированной конечности, были на 20–24 % меньше ($P < 0.05$), чем

показатели в контрольной группе (см. рисунок).

Функциональной потери у мышц левой голени не наблюдалось. Прирост силы мышц-разгибателей составлял 60 ($P < 0.05$), а мышц-сгибателей пальцев стопы – 17 % ($P < 0.05$).

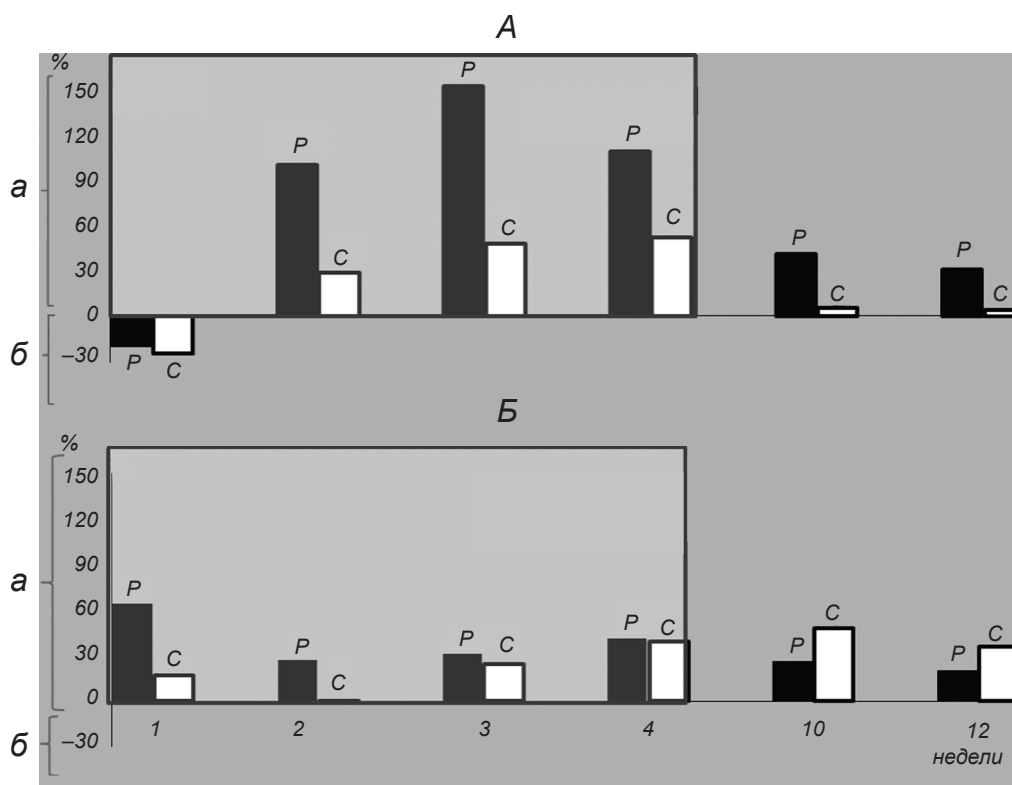
Ситуация кардинально изменялась начиная со второй и по четвертую неделю системного введения ГГОБ. При этом мышцы травмированной конечности реагировали стойким приростом силы как у разгибателей, так и у сгибателей (соответственно в два-два с половиной раза и на 20–50 %; $P < 0.05$) по сравнению с показателями в контрольной группе (см. рисунок). На контралатеральной же конечности функциональный прирост начиная со второй недели у мышц-разгибателей и сгибателей стопы не различался, составляя в среднем 30–40 % ($P < 0.05$).

В более отдаленные сроки после операции (т. е. через шесть и восемь недель после прекращения системного введения натрия ГГОБ) выявлялось достоверное увеличение силы сокращений ($P < 0.05$) мышц обеих конечностей. Так, на травмированной конечности сила возрастала как у разгибателей, так и у сгибателей, но у первых прирост составлял 30–40, а у вторых – лишь 4–5 % по сравнению с контролем (см. рисунок). На контралатеральной же конечности наблюдалась существенно отличная картина. У разгибателей сила возрастала на 26–20, а у сгибателей – на 48–36 % по сравнению с показателями в контрольной группе ($P < 0.05$; см. рисунок).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение влияний натрия ГГОБ на интенсивность произвольных мышечных усилий, развиваемых сгибателями и разгибателями травмированной и контралатеральной конечностей (см. рисунок), продемонстрировало, что травмированная конечность оказалась в целом более чувствительной по отношению к хроническому действию препарата, чем контралатеральная интактная.

Так, при хроническом введении ГГОБ на протяжении первой недели после травмы выявлялась противоположная реакция мышц травмированной конечности (мы наблюдали у них функциональную потерю силы) по сравнению с таковой у мышц контралатеральной (где отмечался прирост силы). Подобные контрастные эффекты обнаруживались ранее при однократном введении ГГОБ [5], когда на



Динамика изменений функциональных характеристик мышц-разгибателей (*P*) и сгибателей (*C*) лодыжки травмированной (*A*) и контралатеральной (*B*) конечностей на протяжении периода системного введения натрия гамма-гидроксibuтирата (четыре недели после травмы нерва) и после окончания введения (10-я и 12-я недели после операции).

По оси абсцисс – время после повреждения правого седалищного нерва, недели; по оси ординат – нормированные значения достоверных ($P < 0.05$) функциональных изменений (%; *a* – приростов или *б* – потерь) согласно средним значениям силы произвольных сокращений мышц обеих конечностей экспериментальной группы по отношению к таковым в контрольной группе.

Динаміка змін функціональних характеристик м'язів-розгиначів (*P*) та згиначів (*C*) лоджки травмованої (*A*) та контралатеральної (*B*) кінцівок протягом періоду системного введення натрію гамма-гідроксibuтирату (чотири тижні після травми нерва) та після закінчення введення (10-й та 12-й тижні після операції).

третьей неделе после операции наряду с проявлением функционального прироста силы мышц травмированной конечности (на 18–23 %) у симметричных мышц контралатеральной («здоровой») конечности наблюдалась функциональная потеря (7–10 %). Этот факт еще раз подтверждает, что эффекты натрия ГГОб по отношению к поврежденным и неповрежденным спинальным структурам на начальном этапе после нанесения травмы являются в значительной мере избирательными. Мы предполагаем, что данные эффекты обусловлены изменениями возбудимости нейронных сетей спинного мозга, происходящими на ипси- и контралатеральной стороне в разное время после травмы [6–8].

Появление функциональной потери у мышц травмированной конечности на протяжении раннего постденервационного периода при введении ГГОб (первая неделя после травмы), возможно, объясня-

ется тем, что в этот период (пять–семь дней после передавливания СН) даже без действия препарата происходят значительные дегенеративные процессы, связанные с накоплением внутриклеточного Ca^{2+} , апоптотическими изменениями в дистальных отделах волокон нерва, повышением возбудимости нейронов ипсилатеральных (из-за уменьшения притока афферентной импульсации к мотонейронам [8]) и уменьшением возбудимости контралатеральных спинальных центров (из-за повышения синаптической эффективности усиленно функционирующих путей [6]). Вероятно, хроническое введение препарата на данном этапе уменьшало возбудимость нейронов и/или еще больше повышало внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в поврежденных нервных волокнах. Это, безусловно, могло приводить к некоторому увеличению интенсивности дегенеративных процессов на стороне травми-

рованной конечности, что косвенно проявлялось в функциональной потере. Усиление дегенеративных процессов, однако, не следует рассматривать односторонне – как абсолютно негативный эффект влияния ГГОБ. На основе этого влияния возможно параллельное ускорение регенеративных и реиннервационных изменений, что, кстати, и наблюдалось при дальнейшем использовании препарата начиная со второй недели системного введения ГГОБ.

Анализируя результаты дальнейшего системного воздействия ГГОБ, необходимо отметить, что уже спустя две недели после операции сократительная активность мышц не только контралатеральной, но и травмированной конечности достоверно усиливалась по сравнению с контролем. На наш взгляд, данный этап начала проявлений позитивного влияния введения ГГОБ был переломным, что подтвердило многосторонность действия этого препарата, а также возможность его интегрального положительного влияния на организм животного. Мы констатировали возникновение наибольших приростов силы в период со второй по четвертую неделю хронического введения ГГОБ у мышц именно травмированной конечности. Этот прирост зависел от функционального назначения мышц – он был наибольшим у разгибателей стопы (в два-два с половиной раза по сравнению с контролем), чем у сгибателей лодыжки и пальцев (на 30–50 %) (см. рисунок). Ранее [5] мы проводили анализ изменений силы сокращений дистальных мышц травмированной конечности после передавливания СН. Оказалось, что наибольшая функциональная потеря и более поздний период восстановления были характерны именно для мышц-разгибателей стопы (78 %; 12 недель), а не для сгибателей пальцев (64 %; 10 недель). Тот факт, что в условиях хронического введения ГГОБ среди всех мышц обеих конечностей именно разгибатели лодыжки травмированной конечности продемонстрировали наибольший прирост силы, свидетельствует о том, что данная функциональная группа наиболее эффективно корректировалась введением ГГОБ. Как мы предполагаем, ГГОБ в большей степени мог корректировать именно те метаболические расстройства (последствия гипоксии, оксидативный стресс и уменьшение интенсивности митохондриального окислительного фосфорилирования), которые возникали в этих конкретных денервированных мышцах [9–12].

Вероятно, одной из главных причин снижения силы мышц вследствие денервации является так называемая адаптация к гипоксии [9, 10]. В ранние

сроки после денервации скелетных мышц у крыс в два-три раза увеличивается количество активных форм кислорода и интенсивность перекисного окисления липидов, тогда как деятельность антиоксидантных систем (АОС) возрастает только на 30–50 % [13]. Поэтому стимулирующее влияние ГГОБ на силу произвольных сокращений именно травмированной конечности, на наш взгляд, можно объяснить повышением функциональной активности АОС в мышечных структурах. Известные метаболические эффекты ГГОБ [14], особенно в скелетных мышцах [15, 16], возможно, проявляются в большей степени в условиях его системного введения. Так, показано, что ГГОМК может существенно влиять на структуру миоцитов, в частности на митохондриальный аппарат (повышать количество митохондрий, их дыхательную активность), оказывать антигипоксическое влияние [16], ускорять темпы связывания накапливающегося при мышечном утомлении аммиака и таким образом предупреждать развитие нежелательных последствий чрезмерной физической нагрузки (накопления конечных токсических продуктов азотистого обмена) [14, 15].

Интересно, что наибольший прирост силы мышц, наблюдаемый в отдаленные сроки, после прекращения введения препарата (10-я и 12-я недели после операции), оказался примерно одинаковым для обеих конечностей (сила сокращений мышц увеличивалась максимально на 30–40 % по сравнению с контролем). Обращают, однако, на себя внимание различия в степени реактивности в этот период у разных групп мышц. Так, данный прирост зависел от функционального назначения мышц: на травмированной конечности он наблюдался у разгибателей, а на контралатеральной – у сгибателей (см. рисунок). Интерпретировать подобный результат затруднительно, поскольку, вероятно, в условиях травмы и под действием ГГОБ происходят сложные компенсаторные ипси/контралатеральные преобразования. Кроме того, необходимо учитывать тот факт, что исследуемые сгибатели пальцев, являясь сгибателями в анатомическом аспекте, работают при сокращении против силы тяжести и, соответственно, в функциональном смысле могут рассматриваться как разгибатели.

Исследования проводились в соответствии с положениями Международной конвенции по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1985), а также положениями Комитета по биоэтике Днепропетровской медицинской академии МЗ Украины.

Авторы настоящей статьи – А. Г. Родинский и Т. В. Демченко – подтверждают, что у них отсутствует конфликт интересов.

А. Г. Родинський¹, Т. В. Демченко¹

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ РЕАКЦІЙ М'ЯЗІВ ЗАДНІХ КІНЦІВОК ЩУРІВ ПІСЛЯ ОДНОБІЧНОЇ КОМПРЕСІЇ СІДНИЧНОГО НЕРВА ТА СИСТЕМНОГО ВВЕДЕННЯ ГАММА-ГІДРОКСИБУТИРАТУ

¹ДУ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (Україна).

Резюме

Проведено порівняльний аналіз силової активності м'язів (розгиначів і згиначів стопи та згиначів пальців задніх кінцівок) щурів протягом періоду системного введення натрію гамма-гідроксибутирату – ГГОБ (100 мг/кг, внутрішньочеревинно, щоденно протягом чотирьох тижнів) після унілатерального передавлювання сідничного нерва (СН). Аналізували також віддалені ефекти після введення препарату (10-й і 12-й тижні після операції). Силу скорочень м'язів визначали за допомогою тензометричних пристроїв. У контрольній групі тваринам СН також передавлювали, але ГГОБ не вводили. В експериментальній групі через тиждень після операції у м'язів на боці передавлювання нерва була виражена функціональна втрата (20–24 %), тоді як на протилежному боці спостерігався функціональний приріст (60–17 %). Починаючи з другого і по четвертий тиждень уведення ГГОБ травмована кінцівка реагувала стійким приростом сили і у м'язів-розгиначів, і у згиначів (відповідно у два-два з половиною рази і на 20–50 %), тоді як приріст сили скорочень м'язів контралатеральної кінцівки (30–40 %) не залежав від функціонального призначення м'язів. У віддалені терміни (10-й і 12-й тижні) після операції сила скорочень м'язів травмованої та контралатеральної кінцівок збільшувалася максимально на 30–40 % порівняно з контролем, причому даний приріст на травмованій кінцівці спостерігався у розгиначів, а на контралатеральній – у згиначів.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. V. Crunelli, Z. Emri, and N. Leresche, “Unravelling the brain targets of γ -hydroxybutyric acid,” *Current Opin. Pharmacol.*, **6**, No. 1, 44-52 (2006).
2. Л. М. Смирнова, “Трансплантация тканей и органопротективное обезболивание”, *Травма*, **9**, № 1,

- 78-82 (2008).
3. N. Anthony van den Pol, K. Obrietan, and Gong Chen, “Excitatory actions of GABA after neuronal trauma,” *J. Neurosci.*, **16**, No. 13, 4283-4292 (1996).
4. А. Г. Родинский, И. Я. Сердюченко, Т. В. Демченко, “Влияние системного введения ГГОБ на восстановление функций дистальных мышц задней конечности крыс после передавливания седалищного нерва”, *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **43**, № 2, 134-146 (2011).
5. А. Г. Родинский, И. Я. Сердюченко, Т. В. Демченко, “Восстановление функциональной реиннервации дистальных мышц задней конечности крыс после передавливания седалищного нерва”, *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **42**, № 5, 405-417 (2010).
6. В. В. Пічурін, *Особливості відновлення рухової функції кінцівок після пошкодження сідничного нерва і збудливості структур спинного мозку*, Автореф. дис. ... канд. мед. наук, Дніпропетровськ (1996).
7. A. Valero-Cabre and X. Navarro, “Changes in crossed spinal reflexes after peripheral nerve injury and repair”, *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **87**, 1763-1771 (2002).
8. Е. А. Макий, *Нейрофизиологические механизмы спинальной гиперрефлексии после повреждения периферических или центральных отделов нервной системы*, Автореф. дис. ... д-ра мед. наук, Донецк (1993).
9. В. П.Ткаченко, В. В. Колдунов, О. Ю. Соломоненко, “Нерво-м'язова система денервованого скелетного м'яза при гіпоксії”, *Фізіол. журн.*, **46**, № 2, 148-149 (2000).
10. В. П. Ткаченко, В. В. Колдунов, “Влияние различных видов денервации на трофику скелетной мышцы”, в кн.: *Карповские чтения: Материалы I Всеукраинской научной морфологической конференции (18–21 мая 2004 г.)*, Тез. докл., Днепропетровск (2004), с. 56-59.
11. А. И. Федин, “Оксидантный стресс и применение антиоксидантов в неврологии”, *Атмосфера. Невр. болезни*, № 1, 15-18 (2002).
12. R. W. Jackman and S. C. Kandarian, “The molecular basis of skeletal muscle atrophy (Review),” *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **287**, No. 4, 834-843 (2004).
13. A. Z. Brazaluk, “Possible mechanism of metabolic disturbance in gastrocnemius muscle after denervation,” *Ukr. Biochem. J.*, **69**, No. 3, 91-103 (1997).
14. M. Manore, R. Meeusen, and B. Roelands, “A–Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance,” *Br. J. Sports Med.*, **45**, No. 1, 73-74 (2011).
15. В. А. Камышева, Р. У. Островская, “Влияние натрия оксибутирата на содержание аммиака в мышцах крыс при физической нагрузке”, *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **89**, № 1, 25-27 (1980).
16. Р. У. Островская, Н. Н. Клейменова, В. А. Арефоров, “Влияние натрия оксибутирата при продолжительном введении на физическую работоспособность и состояние мышечной ткани у крыс”, *Фармакология и токсикология*, **44**, № 5, 534-538 (1981).