

СКОРОЧУВАЛЬНІ РЕАКЦІЇ М'ЯЗА В УМОВАХ АЛІМЕНТАРНОГО ДЕФІЦИТУ ВІТАМІНУ В1

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця (м. Київ)

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри біології Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця «дослідження впливу на синаптичну передачу в м'язах теплокровних організмів вітамінів В1, В6 та їх похідних», № державної реєстрації 0103У000883.

Вступ. Глибокий дефіцит вітаміну В1 у людини може супроводжуватися симптомами прогресуючого поліневрити, для якого характерні парестезії, зниження больової, а потім і глибокої чутливості, атаксія, послаблення сухожилкових рефлексів, м'язова слабкість, парези, а в подальшому – паралічі та атрофія м'язів. Вказані порушення розвиваються спочатку на нижніх кінцівках, розповсюджуючись в подальшому на верхні кінцівки та тулуб. Інколи спостерігаються симптоми ураження черепних нервів та автономної нервової системи [2]. Параліч дихальної мускулатури описаний при отруєнні людини ферментом тіаміназою, яка виробляється деякими видами ціанобактерій і розщеплює тіамін [5]. Крім того, припускається, що деякі випадки раптової смерті немовлят можуть бути пов'язаними з припиненням передачі моторних сигналів до діафрагми, зумовленим порушенням метаболізму вітаміну В1 у діафрагмальному нерві [9]. Однак, в цілому, дефіцит вітаміну В1 не асоціюється у дослідників як провідна причина порушення функціонування дихальної мускулатури. Разом з тим, відсутність візуально зареєстрованих при обстеженні пацієнтів проявів таких порушень при тіамін-дефіцитному стані не означає відсутності у дихальній мускулатурі патологічних змін, які за певних умов, наприклад, при поєднанні кількох несприятливих факторів, що мають односпрямований вплив на організм, можуть мати клінічне значення.

Метою роботи було визначення параметрів скорочувальних реакцій ізольованих френіко-гемідіафрагмальних препаратів, отриманих від мишей з різною аліментарною забезпеченістю вітаміном В1.

Об'єкт і методи дослідження. Для моделювання стану аліментарного дефіциту вітаміну В1 використовували молодих мишей-самців віком біля 1 місяця з початковою масою тіла 10 – 12 г [11]. Тварин рандомізовано ділили на три експериментальні групи. Тварини I (тіамінконтрольної) групи отримували без обмежень штучну тіамінконтрольну дієту [11], яка містила 67,6% вуглеводів, 18% білків, 8% ліпідів, вітаміни (включаючи 16 мг/кг тіаміну гідрохлориду) та мінеральні солі. Тварини III

(тіаміндефіцитної) групи отримували без обмежень штучну тіаміндефіцитну дієту, яка була ідентичною тіамінконтрольній, але не містила тіаміну. Тварини II (тіамінконтрольної з аліментарним обмеженням) групи отримували тіамінконтрольну дієту, але у добовій кількості, яку споживали тварини III групи, що дозволяло диференціювати наслідки власне дефіциту вітаміну В1 та можливого впливу на мишей анорексії, що розвивається в умовах нестачі вітаміну В1 в організмі. Контроль за розвитком аліментарного дефіциту вітаміну В1 у тварин здійснювали з використанням неспецифічного методу, який базується на визначенні маси тіла, та специфічного методу, який полягає у флуориметричному визначенні вмісту загального тіаміну у зразках головного мозку [7]. Для дослідження скорочувальної активності попереочно-посмугового м'яза використовували ізольовані френіко-гемідіафрагмальні препарати, які отримували від тварин I, II та III груп на 10-й, 15-й та 20-й день споживання відповідних раціонів в результаті гострого експерименту. Роботу з тваринами проводили з дотриманням існуючих біоетичних норм та у відповідності до чинного законодавства [6]. Реєстрацію скорочувальних реакцій діафрагмального м'яза здійснювали в ізометричному режимі за допомогою механотронного датчика 6MX1С. Ліву половину діафрагми розміщували в плексигласовій ванночці, через яку при кімнатній температурі (20-210 С) з постійною швидкістю пропускали насичений карбогеном (95% O₂ та 5% CO₂) базовий розчин Кребса такого складу (ммоль/л): NaCl – 137,0, KCl – 5,0, NaHCO₃ – 11,0, NaH₂PO₄ – 1,0, CaCl₂ – 2,5, MgCl₂ – 1,0, глюкоза – 11,0. Вихідне навантаження на м'яз становило 12 мН. Діафрагмальний нерв подразнювали прямокутними поштовхами електричного струму супрамаксимальної сили тривалістю 0,1 мс з частотою 2,67 с⁻¹, яка відповідає середній частоті дихальних рухів миші [3]. Для оцінки надійності синаптичної передачі у вказаних вище препаратах силу скорочень діафрагмального м'яза у відповідь на подразнення нерва визначали трічі: 1) в умовах омивання препарату згаданим вище базовим розчином Кребса безпосередньо перед початком його заміни на модифікований розчин Кребса, в якому, на відміну від базового розчину Кребса, містилося 0,5 ммоль/л CaCl₂ та 1,75 ммоль/л MgCl₂; 2) через 25 хвилин після початку суперфузії препарату модифікованим розчином Кребса; 3) після заміни модифікованого розчину Кребса на базовий

Маса тіла, вміст загального тіаміну в головному мозку та сила скорочень діафрагмального м'язу в умовах споживання тваринами штучних дієт з різним вмістом тіаміну

Тривалість утримування тварин на відповідних штучних дієтах, дні	Група тварин	Маса тварин, г (n = 10)	Вміст загального тіаміну в мозку, мкг/г тканини (n = 7)	Сила скорочень м'язу у базовому розчині Кребса, мН (n = 7)	Сила скорочень м'язу у модифікованому розчині Кребса, мН (n = 7)
10	I	19,6±0,3	2,68±0,18	5,24±0,44	4,24±0,49
	II	19,6±0,3	2,62±0,15	4,93±0,51	3,83±0,44
	III	19,4±0,3	1,57±0,16**++	4,74±0,60	2,70±0,37**++
15	I	20,8±0,4	2,79±0,08	5,42±0,41	4,25±0,37
	II	16,4±0,4##	2,60±0,12	5,29±0,45	4,13±0,48
	III	14,6±0,3**	0,69±0,09**++	4,44±0,51	0,89±0,08**++
20	I	24,6±0,6	2,91±0,15	4,96±0,36	4,10±0,38
	II	14,1±0,1##	2,49±0,20	4,86±0,51	3,68±0,44
	III	12,1±0,1**	0,42±0,04**++	4,24±0,54	0,51±0,05**++

Примітка: I група – тіамінконтрольна, II група – тіамінконтрольна з аліментарним обмеженням, III група – тіаміндефіцитна. Дані представлені у вигляді середніх значень ± похибка середнього. Статистично вірогідна відмінність (P < 0,01) між III та I групами позначена **, III та II групами – ++, II та I групами – ##.

до максимального відновлення сили скорочень [8]. Якщо сила скорочень м'язу у відповідь на подразнення нерва під час третьої реєстрації становила менше ніж 85% такої під час першої реєстрації, дані виключали з подальших розрахунків [8]. Статистичну вірогідність відмінностей значень досліджуваних показників визначали за t-критерієм Стьюдента [4]. У зв'язку з проведенням множинних порівнянь (три групи) відмінності вважали вірогідними при P < 0,017 (поправка Бонферроні) [1]. В роботі використовували тіаміна гідрохлорид виробництва «Sigma» (США), а решту вітамінних препаратів, що входили до складу штучних дієт, DL-метионін та холін-хлорид – виробництва ICN (США).

Результати досліджень та їх обговорення.

Маса тіла тварин I групи збільшувалася упродовж всього періоду спостереження (20 днів), тварин II та III груп – тільки упродовж перших 10 днів, після чого спостерігалось її поступове зменшення (табл.).

У тварин III групи останнє обумовлювалося анорексією внаслідок припинення надходження в організм вітаміну В1, у тварин II групи – зменшення кількості отримуваної їжі у відповідності з її вжитком тваринами III групи на ідентичних строках утримування. Вміст загального тіаміну в головному мозку тварин I та II груп статистично вірогідно не розрізнявся, в той час як у тварин III групи був статистично вірогідно (P < 0,01) меншим порівняно з таким у тварин I і II груп на 10-й день споживання штучних харчових раціонів відповідно на 41,4% і 40,1%, на 15-й день – на 75,3% і 73,5%, на 20-й день – на 85,6% і 83,1% (табл.). Наведені дані свідчать про розвиток аліментарного дефіциту вітаміну В1 у тварин III групи. Разом з тим, тварини II групи, незважаючи на аліментарне обмеження, очевидно, не страждали

від зменшеного надходження вітаміну В1. В умовах суперфузії базовим розчином Кребса, в якому вміст іонів Ca²⁺ (2,5 ммоль/л) та Mg²⁺ (1,0 ммоль/л) був близьким до такого у внутрішньому середовищі організму, сила скорочень діафрагмального м'язу у відповідь на подразнення нерва в нервово-м'язових препаратах, отриманих від тварин I, II та III груп на 10-й, 15-й та 20-й день споживання відповідних раціонів, статистично вірогідно не розрізнялася (табл.). Очевидно, рівень деполаризації м'язових волокон, викликаний дією ацетилхоліну, що вивільнювався з нервових закінчень у відповідь на подразнення діафрагмального нерва, в зазначених умовах виявився достатнім, щоб ініціювати потенціал дії у м'язових волокнах та їх скорочення. Суперфузія нервово-м'язових препаратів модифікованим розчином Кребса з низьким вмістом іонів Ca²⁺ (0,5 ммоль/л) та високим вмістом іонів Mg²⁺ (1,75 ммоль/л) в усіх випадках призводила до зменшення сили скорочень, що, за даними літератури [8], обумовлюється частковим блокуванням нервово-м'язової передачі. При цьому в умовах суперфузії модифікованим розчином Кребса сила скорочень діафрагмального м'язу в препаратах, отриманих від тварин I та II груп на 10-й, 15-й та 20-й день споживання відповідних раціонів, статистично вірогідно не розрізнялася (табл.). Разом з тим, в препаратах, отриманих від тварин III групи, сила скорочень діафрагмального м'язу в модифікованому розчині Кребса була статистично вірогідно меншою порівняно з такою в препаратах, отриманих від тварин I та II груп, вже на 10-й день експерименту, і в подальшому зменшувалася ще сильніше в умовах з поглибленням тіаміндефіцитного стану у тварин III групи (табл.). Ці дані опосередковано свідчать про зменшення надійності

нервово-м'язової передачі [8] в діафрагмальному м'язі під впливом аліментарного дефіциту вітаміну В1. Посилення блокуючого ефекту високих доз іонів Mg^{2+} на синаптичну передачу в скелетному м'язі при поглибленні дефіциту вітаміну В1 в організмі дозволяє зробити припущення, що аналогічного ефекту можна очікувати і від інших агентів, здатних спричинювати блокуючий вплив на нервово-м'язову передачу. Так, наприклад, в клінічній практиці має велике значення урахування впливу різноманітних лікарських засобів та інших чинників (температура, супутні хвороби, порушення кислотно-лужного балансу) на характер нервово-м'язового блоку, здійснюваного міорелаксантами [10]. Цілком імовірно, що дефіцит вітаміну В1 може виступати в ролі одного з факторів, що підвищують ризик розвитку небажаних (побічних) ефектів при застосуванні препаратів цієї групи (ефектів, які зовні схожі на такі, що

виникають при передозуванні міорелаксантів). Ряд антибіотиків може послаблювати синаптичну передачу в скелетних м'язах, викликаючи симптоми міастенії у хворих зі зменшеним запасом надійності нервово-м'язової передачі [12], однією з причин останньої може бути дефіцит вітаміну В1 в організмі.

Висновки. Споживання мишами штучного харчового раціону, позбавленому тіаміну, спричинює прогресивне зменшення надійності нервово-м'язової передачі в діафрагмальному м'язі.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати щодо впливу аліментарного дефіциту вітаміну В1 на скорочувальні реакції діафрагмального м'яза у мишей є джерелом фундаментальних даних, на які можуть опиратися дослідники в галузях фармакології, анестезіології, неврології, гігієни харчування.

Література

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. Ю. А. Данилова. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
2. Диагностика и лечение внутренних болезней : руководство для врачей : в 3 т. / [под ред. Ф. И. Комарова]. – М. : Медицина, 1999. Т. 3. Болезни органов пищеварения и системы крови – 1999. – 528 с.
3. Западнюк И. П. Лабораторные животные / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. – К. : Вища школа, 1983. – 383 с.
4. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2002. – 640 с.
5. Маляревская А. Я. Обмен веществ у рыб в условиях антропогенного евтрофирования водоемов / А. Я. Маляревская. – К. : Наукова думка, 1979. – 256 с.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Островский Ю. М. Тиамин // Экспериментальная витаминология : справочное руководство / Ю. М. Островский. – Мн., Наука и техника, 1979. – С. 176 – 223.
8. Banker V. Q. Neuromuscular transmission and correlative morphology in young and old mice / V. Q. Banker, S. S. Kelly, N. Robbins // J. Physiol – 1983. – Vol. 339. – P. 355 – 375.
9. Barker J. N. Phrenic thiamin and neuropathy in sudden infant death / J. N. Barker, F. Jordan, D. E. Hillman, and O. Barlow // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1982. – Vol. 378. – P. 449 – 452.
10. Cammu G. Interactions of neuromuscular blocking drugs / G. Cammu // Acta Anaesthesiol. Belg. – 2001. – Vol. 52, №4. – P. 357 – 363.
11. Nakagawasai O. Immunohistochemical estimation of brain choline acetyltransferase and somatostatin related to the impairment of avoidance learning induced by thiamine deficiency / O. Nakagawasai, T. Tadano, S. Hozumi [et al.] // Brain Res. Bull. – 2000. – Vol. 52, №3. – P. 189 – 196.
12. Schlesinger F. Competitive and open channel block of recombinant nAChR channels by different antibiotics / F. Schlesinger, K. Krampfl, G. Haeseler [et al.] // Neuromuscul. Disord. – 2004. – Vol. 14, №5. – P. 307 – 312.

УДК 612.816:612.73:577.164.13/.131

СКОРОЧУВАЛЬНІ РЕАКЦІЇ М'ЯЗА В УМОВАХ АЛІМЕНТАРНОГО ДЕФІЦИТУ ВІТАМІНУ В1

Романенко О. В., Шепелев С. Є.

Резюме. Вивчали вплив аліментарного дефіциту вітаміну В1 (тіаміну) на скорочувальні реакції діафрагмального м'яза миші. В ізольованих френіко-гемідиафрагмальних препаратах, отриманих від тварин, які споживали тіаміндефіцитну дієту, сила ізометричних скорочень у відповідь на подразнення нерва в модифікованому розчині Кребса с низьким вмістом іонів Ca^{2+} і високим вмістом іонів Mg^{2+} на 10-й, 15-й і 20-й дні утримання на дієті були статистично вірогідно меншими, ніж в препаратах, отриманих від тварин контрольної групи та контрольної групи з аліментарним обмеженням. Т. ч., дефіцит вітаміну В1 в організмі призводить до зниження надійності синаптичної передачі.

Ключові слова: вітамін В1, тіамін, скорочувальні реакції, нервово-м'язова передача.

УДК 612.816:612.73:577.164.13/.131

СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ МЫШЦЫ В УСЛОВИЯХ АЛИМЕНТАРНОГО ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА В1

Романенко А. В., Шепелев С. Е.

Резюме. Изучали влияние алиментарного дефицита витамина В1 (тиамина) на сократительные реакции диафрагмальной мышцы мыши. В изолированных френико-гемидиафрагмальных препаратах, полученных от животных, потреблявших тиаминдефицитную диету, сила изометрических сокращений в ответ на раздражение нерва в модифицированном растворе Кребса с низким содержанием ионов Ca^{2+} и высоким содержанием ионов Mg^{2+} на 10-й, 15-й и 20-й дни содержания на диете были статистически достоверно меньшими, чем в препаратах, полученных от животных контрольной группы и контрольной группы с алиментарным ограничением. Т. о., дефицит витамина В1 в организме приводит к снижению надежности синаптической передачи.

Ключевые слова: витамин В1, тиамин, сократительные реакции, нервно-мышечная передача.

UDC 612.816:612.73:577.164.13/.131

Muscle Twitching in Conditions of Alimentary Vitamin B1 Deficiency

Romanenko O. V., Shepelev S. E.

Summary. Influence of alimentary vitamin B1 (thiamine) deficiency on twitching of mice diaphragmatic muscle was investigated. Male mice, weighing 10 – 12 g at the beginning, were used. The animals were housed under conditions of constant temperature ($23 \pm 10^{\circ}C$) individually in cages with screen bottom for prevention of cannibalism and coprophagia and randomly divided into three different dietary groups for 20 experimental days. Animals of control group was provided daily with a standard thiamine-controlled diet (16 mg/kg thiamine) with no limitations. Animals of thiamine-deficient group was provided with a standard thiamine-deficient diet (with no limitations) mostly analogous to thiamine-controlled diet but containing no thiamine. Animals of pair-feed group received a standard thiamine-controlled diet, but daily consumption in these animals was limited and made similar to the amount of food consumed by the animals of thiamine-deficient group within identical periods of cage housing (for differentiation of the effects of anorexia related to the thiamine-deficient state in thiamine-deficient animals and proper effects of B1 hypovitaminosis). The body weight of animals (non-specific marker of thiamine deficiency) until the 10th day of feeding was sharply increased, but soon after this, animals of thiamine-deficient group showed anorexia, and thus the amount of food available to animals of pair-feed group was similarly reduced. Therefore, profound loss of body weight in of thiamine-deficient and pair-feed mice was seen after 11 – 12 days of feeding. The brain thiamine content was significantly reduced already by 10 day of feeding at thiamine-deficient animals only. Animals were sacrificed on 10, 15 and 20 days of feeding. Every experimental group contained 7 animals for each day of feeding. All experiments were performed on the phrenic nerve diaphragm muscle preparations. The preparation was placed in a Plexiglas recording chamber and perfused with oxygenated Krebs solution at room temperature. Electrical stimuli (0.1 msec duration, 2.67 Hz) were supplied to the phrenic nerve with a conventional stimulator. The tendinous insertion was attached to a 6MX1C tension transducer. The initial tension was 12 mN. Depression of the indirect twitch in low- Ca^{2+} , high Mg^{2+} modified Krebs solution was used as a relative measure of synaptic efficacy. The base Krebs solution (Ca^{2+}/Mg^{2+} concentrations (mM) 2.5 / 1.0) was then replaced with a low- Ca^{2+} , high Mg^{2+} modified Krebs solution (Ca^{2+}/Mg^{2+} concentrations (mM) 0.5 / 1.75), exchanged once again at 5 min, and the twitch tension tested after a total of 25 min in the altered solution. Under these conditions, transmitter release is reduced, whereas the direct twitch is unaffected. Therefore, reduction in amplitude of the indirect twitch gives a relative measure of synaptic efficacy. Lastly, the muscle was allowed to recover in base Krebs solution. The results were accepted if the twitch tension returned to at least 85% of the starting value. In isolated phrenic nerve diaphragm muscle preparations obtained from animals of control, pair-feed and thiamine-deficient groups, differences of the amplitude of indirect isometric twitch tension in base Krebs solution on the 10th, 15th and 20th days of feeding were not statistically significant. However, in preparations obtained from animals getting a thiamine-deficient diet, the amplitude of indirect isometric twitch tension in low- Ca^{2+} , high Mg^{2+} modified Krebs solution on the 10th, 15th and 20th days of feeding became significantly smaller than in preparations obtained from animals of control and pair-feed groups. The data show progressive alterations of neuromuscular transmission with thiamine-deficiency development. Thus, vitamin B1 deficiency in the organism provokes the decreasing of neuromuscular transmission safety, what can lead to motor functions disturbances.

Key words: vitamin B1, thiamine, twitch tension, neuromuscular transmission.

Рецензент – проф. . Кочина М. Л.

Стаття надійшла 10. 09. 2013 р.