

УДК 629.782.519.711

ОДНОВРЕМЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ СОКРАЩЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ *IN VIVO*

© 2014 Р.А.Эшпай¹, С.Н. Гришин¹, А.Ю. Теплов², Р.С. Сафиуллин¹,
Г.А. Морозов¹, А.М. Фархутдинов², А.Е. Хайруллин², О.Г. Морозов¹

¹ Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева

² Казанский государственный медицинский университет

Поступила 11.10.2014

Описана механомиографическая методика, позволяющая одновременно регистрировать сокращения нескольких скелетных мышц конечности лабораторного животного *in vivo*. При использовании данного метода хронического эксперимента с позвоночными лабораторными животными возможно одновременно исследовать амплитудно-временные характеристики сокращения гетерогенных по качественному составу волокон мышц. В таких условиях крайне эффективно изучать действие фармакологических агентов, а также иных факторов на функциональное состояние различных по типу скелетных мышц.

Ключевые слова: механомиография, мышечное сокращение, различные типы скелетных мышц, сила и скорость мышечного сокращения

ВВЕДЕНИЕ

Изучение функционального состояния скелетной мускулатуры - основа комплексного исследования организма. Основным методом исследования является регистрация параметров проявления основной функции двигательной системы – сокращения мышц [1].

Известные классические методы регистрации контрактивных кривых предусматривают предварительную экстирпацию мышцы, либо ее части, а потом проведение эксперимента *in vitro* [2].

При этом, по принятому стандарту [3, 4], выделенные мышцы фиксируют вертикально, присоединяя один конец к датчику механической активности, в термостатируемых ванночках, заполненных физиологическим раствором. Раздражение мышц электрическим полем проводят стимулятором при помощи двух проводящих колец диаметром 2.5 мм, расположенных на расстоянии 15 мм друг от друга, через которые должна быть пропущена мышца.

Однако, экспериментальные данные, полученные на выделенной мышце не могут быть адекватно аппроксимированы на интактные, так как выделенный мышечный орган находится в неестественном состоянии.

МЕТОД

Нами разработан протокол одновременной регистрации сокращения двух и более мышц *in vivo*, что позволяет осуществлять эксперимент в максимально возможно нативных условиях. Единственным приближенным прототипом можно представить лишь одно известное по источникам устройство [5].

Наркотизация лабораторного животного проводится нами масляным раствором эфира внутривенно. Выбранная для проведения экспериментов конечность лабораторного животного освобождают от шерстяного покрова выбриванием или выщипыванием шерсти. С этого момента и до конца острого эксперимента выбранная конечность чуть прогревается от подведенной для освещения лампы накаливания. На дистальной части выбранной конечности (соответственно, голени или предплечье) проводится продольный разрез поверхностных тканей над выбранными для проведения эксперимента мышцами. Аккуратно отсепааровываются лежащие выше выбранных мышц мягкие ткани. Крупные сосуды при проведении всей вивисекции не должны повреждаться. При выступлении крови необходимо ее промакивать ватными тампонами.

Далее проводится выделение дистальных сухожилий выбранных мышц (например, ахиллово сухожилие). Удостоверяется правильность выбора сухожилия соответствием реакции частей конечности при адекватном потягивании его в проксимальном направлении (к примеру: потягивание дистального сухожилия *m. extensor digitorum longus* вызовет разгибание пальцев данной конечности). После чего под выбранные сухожилия подводится лигатура из нерастягивающейся нити. Затем дистальнее лигатуры сухожилие перерезается. Начиная со свободного дистального конца

Эшпай Роберт Александрович, аспирант, protected-2@mail.ru; Гришин Сергей Николаевич, доктор биологических наук, профессор, sgrishin@mail.ru; Теплов Александр Юрьевич, доктор биологических наук, доцент, alikteplov@mail.ru; Сафиуллин Руслан Сабирович, аспирант, goos33@yandex.ru; Морозов Геннадий Александрович, доктор технических наук, nicnpre@nicpre.kstu-kai.ru; Фархутдинов Альберт Мансурович, кандидат медицинских наук, ассистент, am_farkhutdinov@mail.ru; Хайруллин Адель Евгеньевич, аспирант, khajrulli@yandex.ru; Морозов Олег Геннадьевич, доктор технических наук, профессор, microoil@mail.ru

выбранные мышцы тщательно выделяются наполовину своей нативной длины.

Следующий этап работы начинается с продольного разреза покровных тканей проксимального отдела той же конечности (соответственно, бедра или плеча) по пролегающему ниже нервному стволу (к примеру: седалищного нерва). Отсепаровывая мягкие ткани, выделяется участок соответствующего нерва без нарушения иннервации выбранных для эксперимента мышц. После чего выделенный участок нерва обхватывается изолированными от остальных тканей контактами погружного электрода.

Завершающим этапом подготовки лабораторного животного к эксперименту является катетеризация основной артерии данной конечности. Для этого производится разрез покровных тканей над местом пролегания основной артерии данной конечности (к примеру, бедренной). Без дополнительных повреждений отсепаровываются соответствующие фасции мышц, лежащих над выбранным участком нужной артерии. Раздвигаются мягкие ткани. Осуществляется катетеризация оперированной конечности детским катетером, совместимым с системой подачи жидкости.

Подготовленное таким образом лабораторное животное укладывается на неколеблущуюся подставку. Все четыре конечности закрепляются жестко бинтами за штыри подставки. Мышцы посредством лигатуры прикрепляются за перерезанные дистальные сухожилия к изометрическим датчикам.

В работе возможно применение 2 методов стимуляции мышц:

1. Прямая стимуляция мышц с помощью игольчатых электродов.

2. Непрямая стимуляция – раздражение нерва (к примеру, седалищного) посредством погружного электрода.

Кривые мышечных сокращений регистрируются, усредняются и обрабатываются с помощью специализированной компьютерной программы.

Одиночные сокращения мышц вызываются стимуляцией электрическим полем в течение 30 с прямоугольными импульсами частотой 1 Гц, длиной 0.5 мс, амплитудой порядка 10 В – для не прямой стимуляции и около 100 В – в случае прямой. Также, увеличивая частоту раздражения, можно регистрировать зубчатые и гладкие тетанические сокращения. Сила сокращений регистрируется изометрическими датчиками механической активности (к примеру: MLT050/D производства ID Instruments (Австралия)), аналоговый сигнал оцифровывается и обрабатывается стандартной системой сбора данных. Средняя сила всех сокращений, полученных в течение 30 с (30 ответов) представляется как один результат.

После 30-минутного покоя мышцы через седалищный нерв несколько раз стимулируются электрическим полем с интервалом 10 минут до дос-

тижения стабильных сокращений. Все последующие сокращения оцениваются относительно этого начального ответа, принятого за 100%.

Через катетеризированную бедренную артерию вводятся агенты, чье действие на параметры мышечного сокращения исследуется.

Данная установка с предложенным способом проведения экспериментов позволяет одновременно исследовать действие фармакологических агентов на функциональное состояние различных по типу скелетных мышц: содержащих преобладающее количество «медленных» волокон (к примеру: *m. soleus*, *m. plantaris* и т.п.) и содержащих большее количество «быстрых» волокон (к примеру: *m. extensor digitorum longus*, *m. gastrocnemius* и т.п.).

Мы провели сравнительные серии экспериментов по регистрации кривых сокращения мышц голени крысы (*m. soleus* и *m. extensor digitorum longus*) *in vivo*, а потом, экстирпировав те же мышцы, *in vitro*. Оказалось, что амплитудные и временные параметры сокращения в обоих случаях, в целом, совпадают. Так, при регистрации *in vivo* мы получили следующие параметры сокращения *m. soleus*: сила сокращения составила 2.49 ± 0.06 г, время сокращения 0.079 ± 0.006 с и время полурасслабления 0.180 ± 0.008 с ($n=8$).

В следующей серии мы допрепаровывали данные мышцы, полностью выделяя их из тела животных и помещали в перфузируемую раствором Кребса ванночку механомиографической установки. При условиях, соответствующих нативным (37°C), усредненная кривая сокращения *m. soleus* имела следующие параметры: сила сокращения камбаловидной мышцы крысы составила 2.54 ± 0.06 г, время сокращения 0.075 ± 0.006 с и время полурасслабления 0.173 ± 0.007 с ($n=8$), что достоверно не отличалось ($p>0.05$) от значений, полученных нами *in vivo*.

Сходные результаты мы получили и в экспериментах с *m. extensor digitorum longus in vivo* и *in vitro*.

Из проведенных экспериментов следует признание адекватности применяемых методик с признанием более физиологичным проведение экспериментов *in vivo*.

Поддержано грантом РФФИ № 13-04-01345.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гинецинский А.Г. Влияние симпатической нервной системы на функции поперечнополосатой мышцы // Русский физиологический журнал. 1923. Т. 6. С. 1-3.
2. Хилл А. Механика мышечного сокращения. М., 1972. С. 176.
3. Ахметзянов Р.Х., Филиппов Е.Б. Измерение силовых характеристик мышечных волокон с помощью фотоэлектрического преобразователя // Физиол. журн. СССР. 1986. Т.72, №3. С.387-390.
4. Ziganshin A.U. The influence of hypothermia on P2 receptor-mediated responses of frog skeletal muscle / A.U. Ziganshin, R.R. Kamaliev, S.N. Grishin, L.E. Ziganshina,

- A.L. Zefirov, G. Burnstock // Eur. J. Pharmacol. 2005. V. 21. - P. 187-193.
5. Yucesoy C.A. Pre-strained epimuscular connections cause muscular myofascial force transmission to affect properties of synergistic EHL and EDL muscles of the rat / C.A. Yucesoy, G.C. Baan, B.H. Koopman, H.J. Grootenboer, P.A. Huijing // J. Biomech. Eng. 2005. V. 127(5). P. 819-828.

SIMULTANEOUS REGISTRATION OF CONTRACTION OF DIFFERENT TYPES OF SKELETAL MUSCLE *IN VIVO*

© 2014 RA Eshpai, SN Grishin¹, AU Teplov², RS Safiullin¹, GA Morozov¹, AM Farkhutdinov², AE Khairullin², OG Morozov¹

¹ Kazan Tational Research Technical University

² Kazan State Medical University

Described mehanomiografic technique, which allows simultaneous recording of multiple reduction limb skeletal muscle of a laboratory animal *in vivo*. When using this method of chronic experiment vertebrate laboratory animals may simultaneously explore the amplitude-time characteristics of heterogeneous reduction in the qualitative composition of the muscle fibers. In such circumstances, very effectively to study the effect of pharmacological agents and other factors on the functional state of various types of skeletal muscle.

Key words: mechanomyography, muscle contraction, different types of skeletal muscles, strength and speed of muscle contraction

Robert Eshpai, graduate student, protected-2@mail.ru; Sergei Grishin, Doctor of Biological Sciences, sgrishin@mail.ru; Aleksandr Teplov, Doctor of Biological Sciences, alikteplov@mail.ru; Ruslan Safiullin, graduate student, roos33@yandex.ru; Genady Morozov, Doctor of Technical Sciences, nicpre@nicpre.kstu-kai.ru; Albert Farkhytdinov, Candidate of medical Sciences, am_farkhutdinov@mail.ru; Adel Khairullin, graduate student, khajrulli@yandex.ru; Oleg Morozov, Doctor of Technical Sciences, microoil@mail.ru