УДК: 577.3

Л. В. Левківська – аспірант Київського національного університету імені Тараса Шевченка;
Д. М. Ноздренко – кандидат біологічних наук, доцент кафедри біофізики Київського національного університету імені Тараса Шевченка;
О. М. Абрамчук – кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології людини і тварин Волинського національного університету імені Лесі Українки

Зміна довжини вкорочення м'яза m.tibialis anterior, жаби Rana temporaria при дії діазинону

Роботу виконано на кафедрі біофізики КНУ імені Тараса Шевченка

Вплив розчинів діазинону в концентраціях $1\cdot10^{-6}$, $2{,}5\cdot10^{-6}$, $5\cdot10^{-6}$, $7{,}5\cdot10^{-6}$, $1\cdot10^{-5}$ моль/л спричиняв пригнічення динамічних характеристик м'язового скорочення, яке відбувалося в усіх випадках, починаючи вже з 2-ї хвилини дії пестициду. Проведений у роботі аналіз динамічних властивостей скорочення пучків м'язових волокон свідчить про те, що динаміка зміни їх довжини багато в чому визначається не лише концентрацією, а й часом дії вказаного пестициду. Показано, що збільшення часу досягнення максимального вкорочення в динамічному компоненті призводило не лише до часової затримки встановлення нового стаціонарного рівня, але й до зменшення амплітуди руху.

Ключові слова: скелетний м'яз, динамічні параметри, довжина, м'язове скорочення, діазинон, пестициди.

© *Левківська Л. В., Ноздренко Д. М., Абрамчук О. М., 2012*

Левкивская Л. В., Ноздренко Д. Н., Абрамчук О. Н. Изменения длины укорочения мышцы m. tibialis anterior, лягушки Rana temporaria при действии диазинона. Влияние растворов диазинона в концентрациях $1 \cdot 10^{-6}$, $2{,}5 \cdot 10^{-6}$, $5 \cdot 10^{-6}$, $7{,}5 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л вызывало угнетение динамических характеристик мышечного сокращения во всех случаях, начиная со 2-й минуты действия пестицида. Проведенный в работе анализ динамических свойств сокращения пучков мышечных волокон свидетельствует о том, что динамика изменения их длины во многом определяется не только концентрацией, но и временем действия пестицида. Показано, что увеличение времени достижения максимального укорочения в динамической компоненте вызывало не только временную задержку достижения нового стационарного уровня, но и уменьшение амплитуды движения.

Ключевые слова: скелетная мышца, динамические параметры, длина, мышечное сокращение, диазинон, пестициды.

Levkivska L. V., Nozdrenko D. M., Abramchuk O. M. The Change of the Length of the Muscle Shortening M. Tibialis Anterior, Frog Rana Temporaria Under the Influence of Diazynon. The influence of solutions of diazinon is in the concentrations of $1 \cdot 10^{-6}$, $2{,}5 \cdot 10^{-6}$, $5 \cdot 10^{-6}$, $7{,}5 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l, showed that oppression of dynamic descriptions of muscular reduction had taken place, in all cases, starting already on the 2nd minute of action of pesticide. The analysis of dynamic properties of reduction of bunches of muscle fibres conducted in-process under the action of diazinon testifies that the dynamics of change of their length is in a great deal determined not only by concentration, but also sometimes by actions of the indicated pesticide. It was shown that increasing the time to achieve the maximal shortening in a dynamic component resulted not only in the sentinel delay of establishment of new stationary level but also to diminishing of amplitude to motion.

Key words: skeletal muscle, dynamic parameter, length, muscle contraction, diazinon, pesticides.

Постановка наукової проблеми та її значення. Використання фосфорорганічних інсектицидів є невід'ємною частиною сучасного сільського господарства. Їх широке застосування в аграрній промисловості призводить до зростання кількості випадків гострого та хронічного отруєння даними сполуками [1]. Щорічно у світі нараховано близько 3 000 000 випадків інтоксикації, з них 20 000 смертельних [8]. Значна кількість важких випадків отруєння зумовлена дією фосфорорганічних інсектицидів на функціонування скелетних м'язів [4].

Основним механізмом токсичної дії органофосфатів на скелетні м'язи вважається інактивація ацетилхолінестерази в результаті фосфорилювання залишку серину в активному центрі ферменту, що зумовлює накопичення ацетилхоліну у нервово-м'язових з'єднаннях [6, 5]. Підвищення кількості ацетилхоліну викликає надмірну стимуляцію нікотинових рецепторів та стійку деполяризацію рухової кінцевої пластинки, що призводить до судомного скорочення, фасцикуляції та слабкості м'язів [5].

Аналіз останніх досліджень із цієї проблеми. У значній кількості досліджень зниження сили скорочення м'язів під дією фосфорорганічних інсектицидів розглядається як вторинний наслідок інактивації ацетилхолінестерази [3]. Проте при помірній та тривалій дії інсектицидів у низьких концентраціях наведений механізм не є ключовим [2]. Установлено, що при довготривалій м'язовій слабкості холінергічні симптоми часто не спостерігаються, причому відбувається відновлення початкової потужності м'яза, незважаючи на тривале інгібування ацетилхолінестерази. Значна кількість фосфорорганічних інсектицидів безпосередньо взаємодіють із холінергічними рецепторами та змінюють їх функцію. Важливо, що таке зв'язування може відбуватися при дії низьких концентрацій інсектицидів, недостатніх для інгібування холінестерази [6]. Також установлено інші ефекти дії фосфорорганічних інсектицидів, такі як порушення синтезу АТФ у мітохондріях та оксидативне пошкодження мембрани міофібрил шляхом перекисного окислення ліпідів [7]. Таким чином, досі не існує одностайних поглядів на патофізіологічні зміни, що зумовлюють порушення функціонування м'язів під дією фосфорорганічних інсектицидів. Їх вплив на процес скорочення потребує детального дослідження, що сприятиме вдосконаленню терапевтичних підходів та попередження деструктивної дії даних речовин на м'язові клітини. Зміни динамічних параметрів скорочення можуть бути важливим критерієм оцінки ефектів дії пестицидів на функціонування скелетних м'язів. Оскільки, на сьогодні характер впливу фосфорорганічних інсектицидів на функціонування м'язів ще остаточно не з'ясований і залишається актуальною проблемою досліджень, доцільно було дослідити їх вплив на зміну динамічних параметрів скорочення.

Мета дослідження – з'ясувати вплив діазинону на динаміку м'язового скорочення ізольованих тонких пучків м'язових волокон, викликаного стимуляцією електричними імпульсами.

Матеріали та методи. Дослідження проводилися на волокнах м'яза m.tibialis anterior, виділених із задньої кінцівки жаби Rana temporaria. Експеримент відбувався в ізотонічному режимі при дискретній фіксації динамічних параметрів скорочення та постійному контролі зовнішнього навантаження.

Стимуляцію здійснено електричними імпульсами прямокутної форми тривалістю 2 мс, які сформовано за допомогою генератора імпульсів, керованим ЦАП, через платинові електроди. Характеристики стимулюючого сигналу задавали програмно й передавали з комплексу АЦП-ЦАП на генератор із часом затримки не більш 0,007 мс.

Досліди проводили в розчині Рінгера з періодом релаксації 3 хвилини. Для реєстрації зміни сили використано п'єзодатчик із системою підсилювачів. Для реєстрації зміни довжини препарату використовували систему, виготовлену на основі комплексу фотоелектронного помножувача, трьохпроменевого квантового генератора. Зовнішнє навантаження на досліджуваний препарат здійснено за допомогою системи механостимулятора.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 7.0. При побудові графіків враховували відносну та абсолютну похибки експерименту.

Виклад основного матеріалу й обґрунтування результатів дослідження. На рисунку 1 показано вплив розчину діазинону в концентраціях $1\cdot10^{-6}$, $2{,}5\cdot10^{-6}$, $5\cdot10^{-6}$, $7{,}5\cdot10^{-6}$, $1\cdot10^{-5}$ моль/л, на зміну довжини вкорочення, викликану електростимуляцією поодиноких скорочень волокон скелетного м'яза m.tibialis anterior жаби Rana temporaria. Вплив розчинів діазинону в діапазоні використаних концентрацій свідчить, що пригнічення динамічних характеристик м'язового скорочення відбувалося в усіх випадках, починаючи вже з 2-ї хвилини дії пестициду.

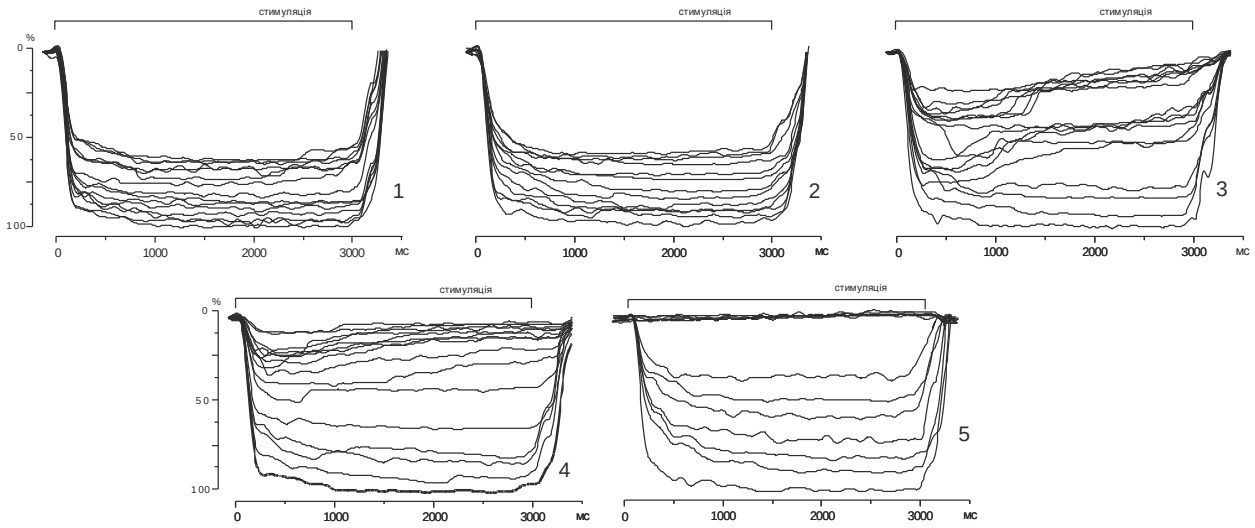

Рис. 1. *Вплив розчинів діазінону на зміну довжини вкорочення пучків м'язових волокон m.tibialis anterior жаби Rana temporaria, викликану електростимуляцією з частотою 30 Гц та тривалістю 3000 мс*
1, 2, 3, 4, 5 – концентрації діазинону $1\cdot10^{-6}$, $2{,}5\cdot10^{-6}$, $5\cdot10^{-6}$, $7{,}5\cdot10^{-6}$, $1\cdot10^{-5}$ моль/л, відповідно.

Початкові значення відповідають максимальним показникам параметрів скорочення без дії досліджуваних речовин. По осі абсцис – час, по осі ординат – відображені відповіді м'язових волокон, виражені у відсотках від контрольного рівня. Час релаксації – 3 хвилини.

Зазначено, що зміна динаміки скорочення м'язових волокон на фоні дії діазинону призводила до того, що навіть відносно невелика затримка часу встановлення стаціонарного стану довжини м'яза викликала значні зміни амплітуди розтягування м'яза й форми траєкторій руху (рис. 1). На рисунку видно, що при використанні однієї й тієї ж концентрації діазинону та однаковому рівні стимуляційного сигналу стан рівноваги встановлюється на різних часових ділянках скоротливого акту залежно від часу дії пестициду.

Зміна довжини при скороченні м'язових волокон із використанням діазинону ($1\cdot10^{-6}$, $2{,}5\cdot10^{-6}$ моль/л) являла собою рух, близький до лінійного (рис. 1(1,2)). Зменшення вкорочення волокон зі збільшен-

ням часу дії діазинону, в будь-якій точці лінійної ділянки руху корелювало з тривалістю статичного компонента скорочення. Зафіксовано, що з використанням концентрацій пестициду ($5\cdot10^{-6}$, $7{,}5\cdot10^{-6}$, $1\cdot10^{-5}$ моль/л) спостерігається чітко виражене збільшення динамічного компонента скорочення, а переходи до різних статичних рівнів зміни довжини визначалися, здебільшого, динамічним компонентом руху невеликої амплітуди (рис. 1 (3,4,5)).

Збільшення часу досягнення максимального вкорочення в динамічному компоненті призводило не лише до часової затримки встановлення нового стаціонарного рівня, а й до зменшення амплітуди руху. Таким чином, саме часова затримка розвитку максимального вкорочення при дії діазинону в концентраціях $5\cdot10^{-6}$, $7{,}5\cdot10^{-6}$, $1\cdot10^{-5}$ моль/л, призводить до флуктуаційних ефектів у встановленні рівноважної довжини м'яза.

Отже, тривалість динамічної фази, тобто часовий інтервал установлення максимального вкорочення, у випадку використання діазинону в концентраціях $5\cdot10^{-6}$, $7{,}5\cdot10^{-6}$, $1\cdot10^{-5}$ моль/л може зумовлювати апроксимацію амплітуди та профілю руху.

На низькоамплітудну зміну довжини активного м'яза у відповідь на дію пестициду в концентраціях $7{,}5\cdot10^{-6}$, $1\cdot10^{-5}$ моль/л, можливо, вплинуло збільшення жорсткості м'яза й це могло сприяти подальшому вкороченню невеликої амплітуди, яке й призводило до пасивного зсуву кривих. Отже, ці дані вказують, що у формуванні макропоказників м'язової динаміки під дією діазинону бере участь велика кількість складних, нелінійних і нестаціонарних процесів.

Висновки й перспективи подальших досліджень. Проведений у дослідженні аналіз динамічних властивостей скорочення пучків м'язових волокон під дією діазинону свідчить про те, що динаміка зміни їх довжини достатньо визначається не лише концентрацією, а й часом дії вказаного пестициду. Водночас відомо, що стимуляційні команди, сформовані у вищих рухових центрах зазнають істотних динамічних перетворень на шляху їх надходження до м'язів. Це, можливо, дасть змогу ЦНС коректувати нестабільність м'язового скорочення, викликаного дією пестициду, та дасть можливість переходу м'яза в новий стаціонарний стан без дестабілізуючих флуктуаційних компонентів скорочення.

Список використаної літератури

1. Кундієв Ю. І. Визначення гранично допустимих рівнів забруднення шкіри пестицидами з використанням коефіцієнту проникнення / Ю. І. Кундієв, В. В. Кірсенко, Т. О. Яструб // Современные проблемы токсикологи. – 2007. – № 2. – С. 45–49.
2. Ефременко Е. Н. Ферменты деструкции фосфорорганических нейротоксинов / Е. Н. Ефременко, С. Д. Варфоломеев // Успехи биологической химии. – 2004. – Т. 44. – С. 307–340.
3. Casida J. E. Organophosphate toxicology: safety aspects of nonacetylcholinesterase secondary targets / J. E. Casida, G. B. Quistad // Chem Res Toxicol. – 2004. – Vol. 17. – P. 983–998.
4. Controversies in the management of organophosphate poisoning / K. L. Bairy et al. // Ind J Pharmacol. – 2007. – Vol. 39, № 2. – P. 71–74.
5. Effects of oximes on muscle force and acetylcholinesterase activity in isolated mouse hemidiaphragms exposed to paraoxon / H. Thiermann at al. // Toxicology. – 2005. – Vol. 214, № 3. – P. 190–197.
6. Karalliede L. Effect of organophosphates on skeletal muscle / L. Karalliede, J. A. Henry // Hum ExpToxicol. – 1993. – V. 12. – P. 289–296.
7. Paudyal B.P. Organophosphorus Poisoning / B.P. Paudyal // J Nepal Med Assoc. – 2008. – V.47, № 172. – P. 251–258.
8. Ramesh C. Toxicology of organophosphate and carbamate compounds / C. Ramesh // Academic Press, 2006. – 763 p.
9. Thiermann H. Muscle force and acetylcholinesterase activity in mouse hemidiaphragms exposed to paraoxon and treated by oximes in vitro / H. Thiermann, P. Eyer, F. Worek // Toxicology. – 2010. – V. 272, № 1–3, 4. – P. 46–51.

Статтю подано до редколегії
07.09.2011 р.