

УДК 612.741.15

О. М. Абрамчук – кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри фізіології людини і тварин Волинського національного університету імені Лесі Українки;
Д. М. Ноздренко – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Київського національного університету імені Тараса Шевченка;
О. П. Мотузюк – кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри фізіології людини і тварин Волинського національного університету імені Лесі Українки

Вплив етилового спирту на динаміку скорочення скелетних м'язів у ізотонічному режимі

*Роботу виконано на кафедрі біофізики
 КНУ ім. Т. Шевченка*

Досліджено динамічні параметри скорочення пучків волокон скелетного м'яза жаби *Rana temporaria* в ізотонічному режимі під впливом двокомпонентної модульованої стимуляції та етилового спирту. Показано, що концентрації спирту нижчі 1 % не викликають помітних змін протікання скоротливих процесів. При концентрації спирту 1 % спостерігалися незначні прояви втомлюваності м'язових волокон. При збільшенні концентрації спирту до 3 % відбувалося значне пригнічення скоротливої діяльності пучків м'язових волокон.

Ключові слова: м'яз, скелетний м'яз, етанол, динамічні параметри, сила, довжина, скорочення.

Abramchuk O. M., Nozdrenko D. M., Motuziuk O. P. Effect of Etanol on Dynamic Characteristics of the Frog Muscle Fibres Contraction Under Isotonic Condition. This work is devoted to investigation of the influence of etanol on dynamics of the contraction of skeletal muscle fibers of the frog *Rana temporaria*. The research was carried out by means of tensometry. The experiments were carried out in the isotonic regime under the constant control of dynamic parameters of the contraction. The use of the etanol leads to inhibition of the muscle contraction.

Key words: etanol, muscle, dynamic parameter, muscle contraction, length, strength, skeletal muscle.

З'ясування принципів та механізмів скорочення м'яза є одним із найважливіших завдань біофізики. Постійне всебічне вивчення властивостей поперечно-смугастих м'язів дали змогу накопичити значну кількість експериментальних даних [2; 8; 11; 14], що, в свою чергу, приводить до постійної зміни уявлень про структурні та функціональні аспекти роботи м'язів. Однак, незважаючи на численні дослідження в цій галузі, на сьогодні немає одностайності у поглядах на молекулярні механізми процесів скорочення [7; 15; 19; 20]

Підвищений інтерес дослідників до структурно-функціональної організації рухової системи і тонких механізмів роботи її окремих елементів детермінований надзвичайною значимістю м'язів для здійснення локомоції та підтримання пози біологічних об'єктів [3; 4; 6].

Сучасний етап досліджень процесів м'язового скорочення вимагає детального вивчення механізмів впливу різних біологічно активних речовин на механіку цих процесів. Однак відомо, що ряд біологічно активних речовин погано розчинні у воді, але добре розчинні в органічних розчинниках [10; 12; 16]. Найчастіше як розчинник використовують етиловий спирт [13; 17]. У літературі трапляються суперечливі дані щодо припустимої концентрації етилового спирту під час роботи зі скоротливими структурами скелетного м'яза. Описано різні випадки використання етанолу як розчинника для біологічно активних речовин під час роботи з м'язовими структурами. Концентрації спирту, які не впливають на параметри скорочення, у різних джерелах коливаються в межах від 1 до 3 % [18]. Перш ніж вивчати дію спиртових розчинів досліджуваних речовин на механіку м'язового скорочення, нами була проведена група дослідів щодо дії спирту на параметри сили та зміни довжини пучків м'язових волокон.

Матеріали і методи. Дослідження проводилися на пучках волокон м'язу *m. tibialis* жаби *Rana temporaria*. Волокна виділялися механічним шляхом після декапітації піддослідних тварин та інкубувалися протягом 2 год в інтервалі температур $+3 \pm 1$ °C для адаптації до подальших умов експерименту [5]. Фіксація м'язового препарату здійснювалися за допомогою алюмінієвих затиска-

чів. Препарат розміщувався в плексигласовій камері з постійно циркулюючим фізіологічним розчином Рінгера. Температура циркулюючого розчину підтримувалася в інтервалі температур $+3 \pm 1$ °C за допомогою охолодження. Один кінець волокна приєднувався до ємнісного датчика сили, чутливість якого дорівнювала 0,1 г на 1000 мВ. Датчик сили був жорстко зафіксований на мікроманіпуляторі з кроком 0,8 мкм. Другий кінець препарату жорстко фіксувався до датчика довжини, який являв собою фотоелектронний помножувач. Стимуляція здійснювалася за допомогою двох платинових електродів, розміщених у дослідницькій камері на відстані 4 мм по обидві сторони м'язового волокна, прямокутними імпульсами тривалістю 3 мс із частотою від 0,5 до 30 Гц. Період релаксації складав 2 хв. Параметри стимуляції задавалися з комп'ютера за допомогою генератора імпульсів. В експериментах використовувалися розчини етанолу: 0,2 %, 0,5 %, 0,7 %, 1 %, 2 %, 3 %. Циркулюючий фізіологічний розчин Рінгера, а також спиртові розчини подавали в камеру через систему трубок. Кожна з представлених на рисунках кривих є результатом усереднення серії з 10-ти аналогічних експериментів. Статистична обробка результатів дослідження проводилася за методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 7.0. Під час побудови графіків враховувалися відносна та абсолютна похибки експерименту.

Основна частина. Відомо, що ряд біологічно активних речовин практично нерозчинні у фізіологічних розчинах [1; 9]. Для вирішення цієї проблеми використовують органічні розчинники, зокрема, етанол. Водночас відомо, що етанол є реакційноздатною сполукою, яка навіть при незначних концентраціях може змінювати динамічні, біохімічні та механічні параметри скорочення м'язів. Тому, під час дослідження кінетики скорочень, викликаних короткочасовими стимулюючими сигналами, незначні похибки, які виникають під впливом розчинника, можуть суттєво змінювати характер досліджуваних кривих. Щоб упевнитись у тому, що використаний розчинник не впливає на результати досліджень, проведено експерименти з безпосереднім використанням етанолу в досліджуваному інтервалі концентрацій (0,2–3 %).

Для зручності опису отриманих результатів та їх адекватного трактування нами проведено розподіл динамічної відповіді активного м'яза на окремі часові ділянки (фази – тривалістю 500 мс), які відповідали різним функціональним та часовим станам процесу скорочення. Силова відповідь м'яза була розділена на три функціональні фази.

- F1 – початок силової відповіді м'яза, яка збігається з початком стимулюючого сигналу;
- F2 – відповідає виходу силової продуктивності м'яза на стаціонарний рівень, без помітного тренду в той чи інший бік;
- F3 – кінцева фаза активності м'яза;
- Зміна довжини м'язових волокон була розбита на три фази;
- L1 – початок зміни довжини м'яза (перші 500 мс стимулюючого сигналу);
- L2 – відповідає часу виходу довжини на стаціонарний рівень скорочення;
- L3 – відповідає закінченню скорочення, пов'язаного із завершенням еферентної стимуляції.

Під час аналізу кривих зміни довжини у цій серії дослідів нами проаналізовано перші дві фази. Фазу L3 не аналізували, оскільки впродовж неї відбувалися помітні флуктуації навіть після закінчення стимуляції. На нашу думку, це пов'язано з можливою зміною жорсткісного компонента м'язових волокон, викликаного різкою зміною пружності волокна, який, у свою чергу, залежав від миттєвого закінчення стимулюючого сигналу. Фіксація та адекватний аналіз цих процесів являли собою значні труднощі.

У результаті досліджень встановлено, що після початку стимулюючого сигналу частотою 30 Гц та загальною тривалістю 3000 мс силова відповідь м'яза у фазі F1 досягає свого максимуму протягом перших 50–80 мс дії стимулюючого подразника.

Незначне спадання сили після досягнення нею максимальної величини на графіках зміни сили скорочення м'яза, на нашу думку, являє собою інерційну компоненту і не несе в собі раціональної інформації про вплив досліджуваних речовин. Відсутність указаної інерційної компоненти на графіках зміни довжини волокон, можливо, пов'язане зі зростаючою жорсткістю м'язового волокна при різкій зміні його довжини з нативного стану.

Для отримання початкового тестованого руху не з нативного стану спокою м'язових волокон, а зі стану невеликого попереднього напруження подавали одиничний стимулюючий сигнал. Унаслідок цього на графіках спостерігався незначний пік, який виникав перед відповіддю м'яза на

стимулюючий сигнал. Ця процедура давала змогу отримувати згладжені відповіді без помітних флукуаційних коливань у початкових фазах скорочення (F1, L1).

Для більш точного та адекватного опису змін динамічних відповідей м'язових волокон побудовано графіки залежності сили та довжини м'язових волокон від тривалості дії досліджуваних речовин.

У результаті досліджень встановлено, що розчин спирту концентрацією 0,2 % практично не викликав змін у динаміці скорочення (рис. 1). Зміни силової відповіді та довжини майже не відрізнялися від контрольних значень. Використання 0,5 % розчину спирту приводило до незначного зменшення силової відповіді на фоні незмінної, порівняно з контролем, довжини.

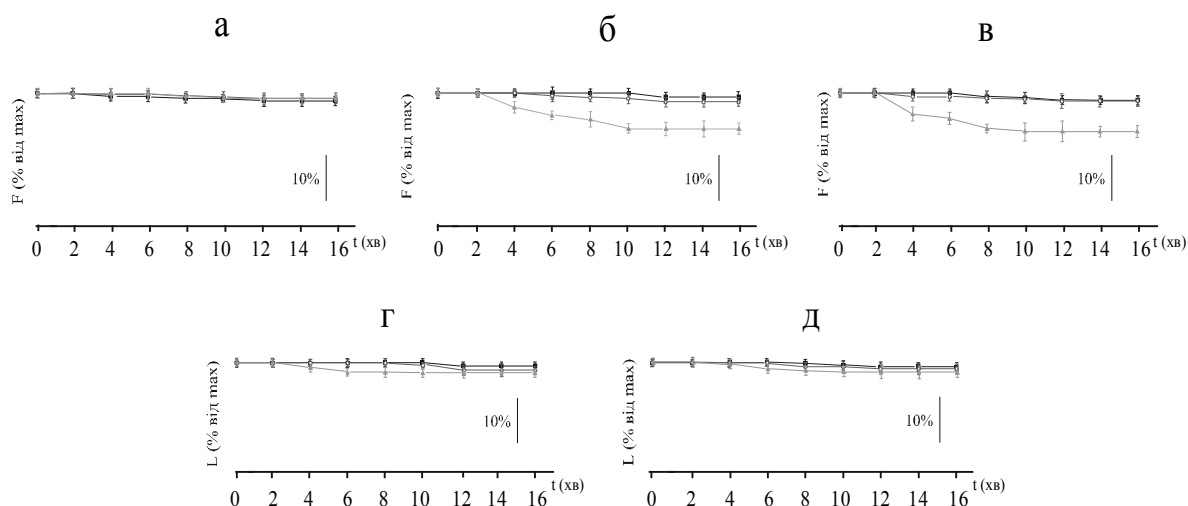


Рис. 1. Вплив розчинів етилового спирту на динамічні параметри скорочення викликані електростимуляцією з частотою 30 Гц та тривалістю 3000 мс залежно від тривалості дії реагенту: ■ – розчин етилового спирту 0,2 %; ○ – розчин етилового спирту 0,5 %; ▲ – розчин етилового спирту 0,7 %. F – зміна сили м'язового скорочення; L – зміна довжини скорочення. а – фаза F1; б – F2; в – F3; г – L1; д – L2 (пояснення в тексті). Тривалість виділених фаз 500 мс. Початкові значення відповідають максимальним показникам параметрів скорочення без дії досліджуваних речовин. У кожній із представлених кривих показано максимальні показники параметрів скорочення на кожному з часових інтервалів (викликані окремим стимулюючим сигналом). По осі абсцис – час дії досліджуваних речовин, по осі ординат відображені відповіді м'язових волокон, виражені у відсотках від контрольного рівня ($M \pm m$, $n = 12$). Час релаксації – 2 хв.

У процесі збільшення тривалості дії розчину спирту не спостерігалось змін у досліджуваних процесах (рис. 1). Зниження параметрів скорочення починалася з 0,7%-ї концентрації спирту. За цих умов відбувалося незначне спадання довжини скорочення (L1 – $97,8 \pm 0,9$ %; L2 – $97,9 \pm 1,3$ %) на 10-й хвилині експерименту, яка залишалася на цьому рівні до кінця стимуляції.

Силова відповідь м'язових волокон залишалася практично незмінною на початкових етапах скоротливого процесу F1; спадала на середньому часовому відрізку F2 до $91,9 \pm 1,1$ % (10-та хвилинка дії); на фазі F3 складала $91,4 \pm 2,2$ % ($p > 0,05$) від початкового рівня. Слід зазначити, що залежності силової продуктивності м'яза та довжини м'язових волокон від використаних концентрацій розчинника були лінійними.

Під час дослідження 1 %-ї концентрації розчинника виявлено суттєві зміни в динаміці скорочення (рис. 2). За цієї концентрації вкорочення м'язових волокон було менш вираженим порівняно зі зменшенням силової відповіді.

Зміни довжини у фазах L1, L2 відбувалися лінійно – $94,1 \pm 3,4$ % та $94,9 \pm 2,6$ % ($p > 0,05$) відповідно, порівняно з контролем.

За описуваної концентрації упродовж фази F1 сила м'язового скорочення складала $95,7 \pm 2$ % ($p > 0,05$); у фазах F2, F3 статистично вірогідне зменшення силової продуктивності становило $81,2 \pm 2,9$ % та $78,2 \pm 3,9$ % відповідно. Ці процеси мали лінійний характер (рис. 2).

Під час дослідження 2%- та 3%-ї концентрацій спирту встановлено, що в обох випадках зменшення вкорочення м'язових волокон відбувалося інтенсивніше, порівняно з показниками сили скорочення (рис. 2). Під час дії 2%-го етилового спирту зміна довжини м'язового скорочення впродовж

фаз L1 та L2 становила $73 \pm 3,1 \%$ та $72,5 \pm 3,9 \%$ ($p < 0,05$) (10-та хвилина) від контролю відповідно і залишалася незмінною до кінця досліджу.

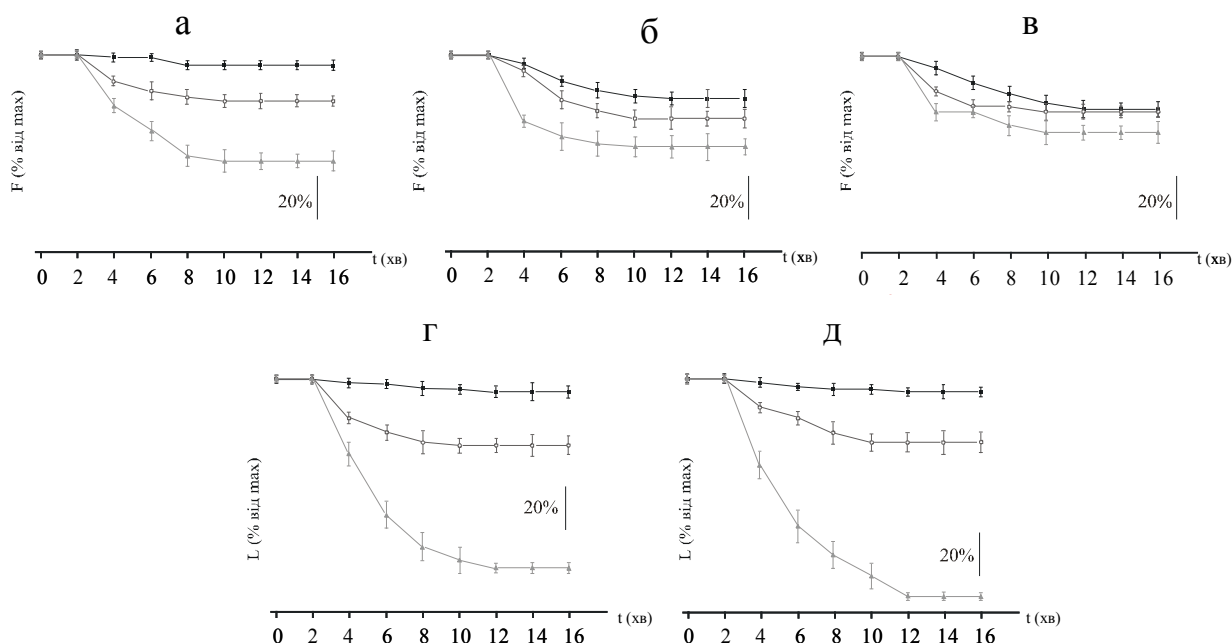


Рис. 2. Вплив розчинів етилового спирту на динамічні параметри скорочення викликані електростимуляцією з частотою 30 Гц та тривалістю 3000 мс залежно від тривалості дії реагенту: ■ – розчин етилового спирту 1 %; ○ – розчин етилового спирту 2 %; ▲ – розчин етилового спирту 3 %. F – зміна сили м'язового скорочення; L – зміна довжини скорочення. а – фаза F1; б – F2; в – F3; г – L1; д – L2 ($M \pm m$, $n = 12$). Тривалість виділених фаз 500 мс. Час релаксації 2 хв. Інші позначення як на рис. 1

Під час дії 3%-го етилового спирту величина вкорочення м'язових волокон у фазі L1 та фазі L2 зменшувалася до нуля на 12-й хвилині. За вищезгаданої концентрації спостерігалось зниження силової відповіді впродовж фази F1 до $49,8 \pm 6,4 \%$, F2 – до $60,5 \pm 4,6 \%$ та F3 – до $65,4 \pm 2,2 \%$ ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Висновки і перспективи подальших досліджень. Таким чином, можна припустити, що низькі концентрації етанолу (до 0,5 %) не впливають на динамічні параметри м'язового скорочення. У той же час результати наших досліджень указують на необхідність урахування інгібіторної дії етилового спирту в концентраціях від 0,7 % і вище та нерівномірного впливу спиртових розчинів зазначених концентрацій на різні часові ділянки тетанічного скорочення. Отже, під час проведення досліджень динамічних характеристик скорочення скелетного м'яза в експериментальних розчинах концентрації етилового спирту не повинні перевищувати 0,5–0,7 %. Відмивання м'язових препаратів розчином Рінгера супроводжувалося відновленням динамічних параметрів скорочення до вихідних значень.

Література

1. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов.– М.: Мир, 1986.– 425 с.
2. Бэгшоу К. Мышечное сокращение: Пер с англ.– М.: Мир, 1985.– 128 с.
3. Гурфинкель В. С., Левик Ю. С. Скелетная мышца: структура и функция.– М.: Наука, 1985.– 144 с.
4. Мак-Комас А. Дж. Скелетные мышцы // Олимп. спорт.– К., 2001.– 406 с.
5. Мірошніченко М. С., Залоїло І. А., Ноздренко Д. М., Прилуцький Ю. І. Динаміка скорочення ізольованого м'язового волокна // Фізика живого.– 2002.– № 2.– С. 71–77.
6. Скок В. И., Шуба М. Ф. Физиология нервов и мышц.– К.: Вища шк., 1986.– 224 с.
7. Тихонов А. Н. Молекулярные моторы // Соросов. образоват. журн.– 1999.– № 3.– С. 10–24.
8. Харкевич Д. А. Фармакология.– М.: Медицина, 1993.– 593 с.
9. Dunnick J. K., Hailey J. R. Toxicity and carcinogenicity studies of quercetin, a natural component of foods // Fundam. Appl. Toxicol.– 1992.– Vol. 19.– P. 423–31.
10. Formica J. V., Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids // Food Chem. Toxicol.– 1995.– Vol. 33, № 12.– P. 1061–1080.
11. Gans C., Gaunt A. S. Muscle architecture in relation to function // J. of Biomechanics.– 1991.– Vol. 24, № 1.– P. 53–65.

12. Gaunt A. S. Muscle architecture in relation to function // J. of Biomechanics.– 1991.– Vol. 24, № 1.– P. 53–65.
13. Havsteen B. Flavonoids: a class of natural products of high pharmacological potency // Biochem. Pharmacol.– 1984.– Vol. 32.– P. 1141–1148.
14. Hill A. V. First and last experiments in muscle mechanics. Cambridge: Univ. press, 1970.– 140 p.
15. Huxley H. E. The contraction of muscle // Scientific American.– 1958.– Vol. 199.– P. 67–82.
16. Middleton E., Kandaswami J. C., Theoharides T. C. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer // Pharmacol. Rev.– 2000.– Vol. 52, № 4.– P. 673–751.
17. Nijveldt R. J., Nood E., Hoorn D. E., Boelens P. G., Norren K., Leeuwen P. A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications // Am. J. Clin. Nutr.– 2001.– Vol. 74, № 4.– P. 418–425.
18. Parmar N. S., Ghosh M. S. Current trends in flavonoid research // Ind. J. Pharmac.– 1980.– Vol. 12, № 4.– P. 213–228.
19. Rios E., Ma J. J., Gonzalez A. The mechanical hypothesis of excitation-contraction (EC) coupling in skeletal muscle // J. of Muscle Research and Cell Motility.– 1991.– Vol. 12.– P. 127–135.
20. Squire J. M. Molecular mechanism in muscular contraction // Trends Neurosci.– 1983.– Vol. 6, № 2.– P. 408–413.

Адреса для листування:

Луцьк, вул. Кравчука, 22/191.

Тел. (0332) 73-74-01 (дом.).

Ел. адреса: olichka_mel@rambler.ru

Статтю подано до редколегії
06.05.2008 р.