

УДК: 577.3

Л. В. Левківська – аспірант кафедри біофізики 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, старший викладач кафедри фізіології людини і тварин Волинського національного університету імені Лесі Українки

Аналіз динамічних властивостей силової активності м'язових волокон під впливом діазинону

Роботу виконано на кафедрі біофізики КНУ ім. Тараса Шевченка

Показано, що пригнічення динамічних характеристик м'язового скорочення відбувалось, починаючи з концентрації $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Використання концентрації діазинону 10^{-5} моль/л майже повністю інгібувало

© Левківська Л. В., Ноздренко Д. М., Абрамчук О. М., 2011

активність скелетно-м'язових препаратів. Показано зміну структури динамічного компонента м'язової відповіді та перехід до нових рівнів утримання стаціонарного стану скорочення в міру збільшення концентрації досліджуваного пестициду.

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

Левкивская Л. В., Ноздренко Д. Н., Абрамчук О. Н. Анализ динамических свойств силовой активности мышечных волокон при воздействии диазинона. Показывается, что угнетение динамических характеристик мышечного сокращения происходило, начиная с концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Использование концентрации диазинона 10^{-5} моль/л почти полностью ингибировало активность скелетно-мышечных препаратов. Показывается изменение структуры динамического компонента мышечного ответа и переход к удержанию новых уровней стационарного состояния сокращения с увеличением концентрации исследуемого пестицида.

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

Levkivska L. V., Nozdrenko D. M., Abramchuk O. M. Analysis of the Dynamic Characteristics of Force Active Muscle Fibers under the Influence of Diazinon. It was shown that depression of muscle contraction dynamical characteristics take place starting from diazinon concentration $1 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Usage of diazinon in concentration $1 \cdot 10^{-6}$ mol/l almost inhibited activity of muscle samples. The change of the dynamical component of muscle response and transition to retention of a new levels of contraction stationary state during increase of pesticide concentration was shown.

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

Постановка наукової проблеми та її значення. Пестициди є одним із постійно діючих факторів екологічного забруднення. Насичення навколишнього середовища потенційно небезпечними токсичними речовинами, в тому числі і пестицидами, призводить до зростання числа патологій, які зумовлені їх впливом [1; 2; 3; 4]. Фосфорорганічні сполуки, а також їхні похідні становлять більш ніж 40 % загальної кількості пестицидів, що використовуються в сільському господарстві [5]. Незважаючи на велику кількість епідеміологічних та експериментальних даних про токсичний вплив фосфорорганічних інсектицидів [6; 7; 8], досі немає одноставних поглядів щодо їхнього впливу на функціонування скелетних м'язів.

Скелетні м'язи беруть участь у виконанні важливих фізіологічних процесів в організмі хребетних тварин та людини, а саме: рух, підтримка положення тіла та дихання. Ефективність роботи скелетних м'язів залежить від їхньої скоротливої здатності. Основними динамічними параметрами, за допомогою яких можна охарактеризувати процес скорочення, є сила та довжина м'язів [9].

У більшості досліджень як основний механізм токсичної дії органофосфатів, зокрема на скелетні м'язи, розглядається інгібування ацетилхолінестерази. Пригнічення активності цього ферменту призводить до накопичення ацетилхоліну в нервово-м'язових з'єднаннях, що зумовлює комбіновану дисфункцію пресинаптичної та постсинаптичної нервово-м'язової передачі [10]. Унаслідок таких порушень відбувається судомне скорочення, фасцикуляція та слабкість м'язів.

На сьогодні виявлено інші механізми цитотоксичності фосфорорганічних інсектицидів. Встановлено, що слабкість м'язів при гострому отруєнні може також зумовлювати NO-опосередковане пригнічення активності мітохондріальної АТФ-синтази. Пестициди цього класу здатні індукувати оксидативне пошкодження мембрани міофібрил унаслідок надмірного вивільнення вільних радикалів, особливо активних форм кисню та азоту. Показано підвищення активності $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФази мітохондріальної та цитоплазматичної фракцій м'язових клітин та пригнічення активності Ca^{2+} -АТФази при гострому отруєнні органофосфатами [10]. Причому, всі ці ефекти розглядаються лише як вторинні наслідки інгібування ацетилхолінестерази.

Встановлено, що механізм нейротоксичної дії фосфорорганічних інсектицидів може відрізнятися в межах цього класу та не залежати від ацетилхоліну. Залишається незрозумілим, чи впливають органофосфати на роботу скелетних м'язів незалежно від їх холінергічних ефектів.

Крім того, деякі з фосфорорганічних інсектицидів, зокрема ті, що належать до підкласу фосфоротіоатів, проявляють порівняно низьку антихолінестеразну активність, або зовсім її не проявляють. Фосфоротіоати мають здатність інактивувати естерази лише після їх перетворення в більш реакційноздатні оксоформи. Прикладом таких речовин є діазинон. У сучасній літературі бракує даних щодо впливу діазинону на функціонування скелетних м'язів. Його вплив на роботу м'язової системи можна оцінити за зміною 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 й методи дослідження. Експеримент проводили в ізотонічному режимі при постійному контролі температури та дискретній фіксації динамічних параметрів скорочення. Під час експерименту фіксували силу скорочення, температуру омиваючого розчину та параметри стимулюючого сигналу при постійному контролі зовнішнього навантаження. Дослідження проводились на волокнах м'яза *m.tibialis anterior*, виділених із задньої кінцівки жаби *Rana temporaria*. Препарат протягом 60 хв. підлягав адаптації в постійно циркулюючому фізіологічному розчині: 115,5 мМ/л NaCl, 2 мМ/л KCl, 1,8 мМ/л CaCl₂ та 2 мМ/л Na₂HPO₄ + NaH₂PO₄ (pH 7.0)

У експериментах використовували розчини діазинону в діапазоні концентрацій від 10⁻⁵ до 10⁻⁶ моль/л.

Для реєстрації сили скорочення пучків волокон скелетного м'яза використовували тензометричну установку, створену на кафедрі біофізики Київського національного університету ім. Тараса Шевченка. Цей пристрій являв собою комплекс, що складався з камери з системою датчиків, в якій розміщувався досліджуванний препарат, системи насосів та дозаторів, датчиків сили, генератора синхронних імпульсів, системи термоконтролю, осцилографів, комплексу АЦП-ЦАП. Стимуляцію здійснювали електричними імпульсами прямокутної форми тривалістю 2 мс, які формували за допомогою генератора імпульсів, керованим ЦАП, через платинові електроди. Тривалість стимулюючого сигналу становила 3000 мс.

Характеристики стимулюючого сигналу задавали програмно і передавали з комплексу АЦП-ЦАП на генератор із часом затримки не більш 0,3 мс. Згенеровані аналогові імпульси поступали через подразнюючі електроди до дослідницької камери з м'язовим препаратом. Час затримки при цьому становив не більш 0,2 мс. Загальний час затримки фіксували на вході комплексу АЦП-ЦАП, що давало змогу компенсувати його при обробці результатів. Полярність стимуляції можна було змінювати залежно від симетричності розміщення подразнюючих електродів щодо просторового розміщення досліджуваного препарату.

Для реєстрації зміни сили використовували п'єзодатчик із системою підсилювачів. Датчик сили розміщувався на трикоординатному столику з мікрометричними подачами, що давало змогу орієнтувати положення датчика щодо камери та датчика довжини волокна. Чутливість датчика сили, який використовували в експериментах, становила 1г/10В, що повністю задовольняло умови дослідження.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 7.0. Під час побудови графіків враховували відносну та абсолютну похибки експерименту. Отримані показники, трансформовані комплексом АЦП-ЦАП, піддавалися згладжуванню за допомогою FFT (Fast Fourier Transform) – фільтра з коефіцієнтом згладжування $k = 5$. Кожна крива, наведена на рисунках у нашій статті, є результатом узагальнення 10–12-ти аналогічних експериментів.

Виклад основного матеріалу й обґрунтування результатів дослідження. Наші попередні дослідження показали, що діазинон у концентраціях вищих ніж 10⁻⁵ моль/л вже після третьої хвилини досліджень пригнічує активність скелетно-м'язових препаратів майже на 100 %. Найбільш вагомі зміни в динаміці силових кривих на фоні лінійного зменшення загальної сигової продуктивності м'язових волокон відбувалися при використанні концентрації діазинону від 10⁻⁵ моль/л до 10⁻⁶ моль/л.

На рис. 1 показано вплив розчину діазинону в концентраціях 1·10⁻⁶; 2,5·10⁻⁶; 5·10⁻⁶; 7,5·10⁻⁶; 1·10⁻⁵ моль/л на викликані електростимуляцію поодинокі скорочення волокон скелетного м'яза. З рисунка видно, що пригнічення динамічних характеристик м'язового скорочення відбувалось, починаючи з восьмої хвилини дії досліджуваного пестициду в концентрації 1·10⁻⁶ моль/л. Із підвищенням концентрації діазинону час початку пригнічення скоротливих процесів лінійно зменшувався від шести хвилин в концентрації 7,5·10⁻⁶ до трьох хвилин у концентрації 1·10⁻⁵ моль/л. Слід відзначити, що, починаючи з концентрації діазинону 5·10⁻⁶ моль/л, лінійне зменшення сигової відповіді змінювалося нелінійною сиговою відповіддю. Перетворення частотно-модульованої стимуляції в м'язове скорочення при дії діазинону в діапазоні концентрацій 5·10⁻⁶; 7,5·10⁻⁶; 1·10⁻⁵ моль/л може розглядатися як перехід активного м'яза в нелінійну динамічну систему (рис. 1).

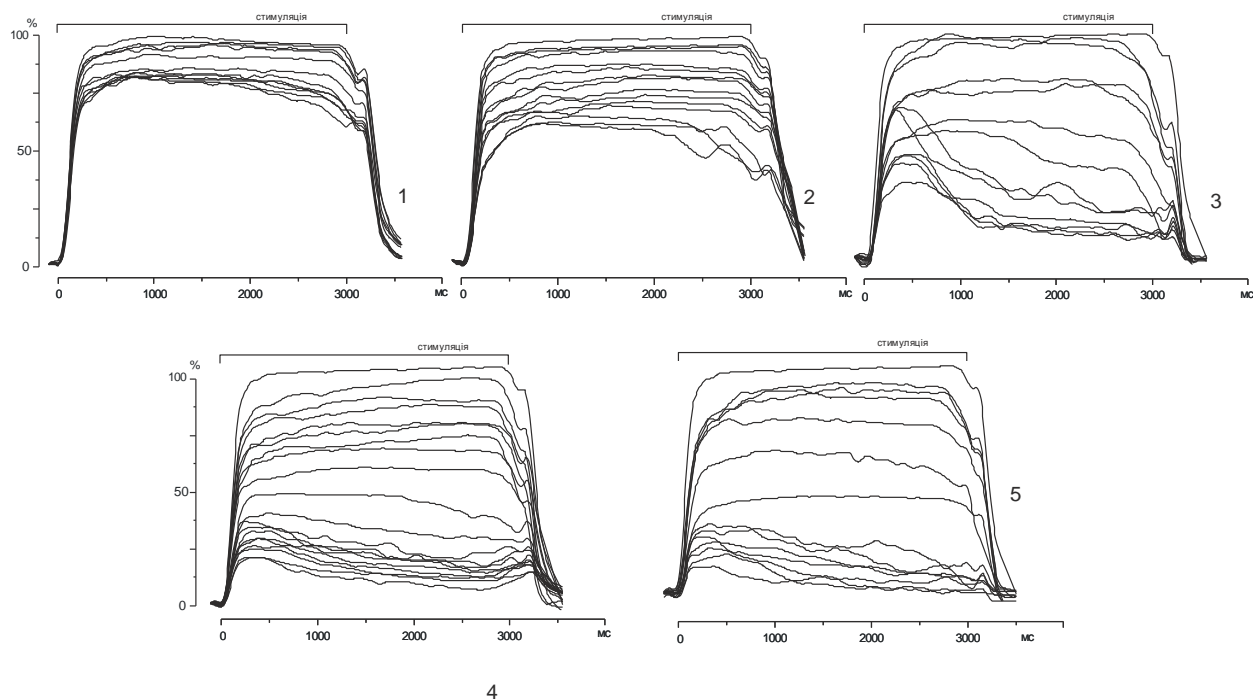


Рис. 1. Вплив розчинів діазинону на зміну сили м'язового скорочення, викликану електростимуляцією з частотою 30 Гц та тривалістю 3000 мс. 1 – концентрації діазинону $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л; 2 – $2,5 \cdot 10^{-6}$; 3 – $5 \cdot 10^{-6}$; 4 – $7,5 \cdot 10^{-6}$; 5 – $1 \cdot 10^{-5}$

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

При підвищенні рівня концентрації пестициду, починаючи з $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л, зміна тривалості динамічного компонента не лише уповільнювала перехід до нового стаціонарного рівня, а й приво-дила до дестабілізації амплітуди руху.

Перехід лінійного спаду силової відповіді в нелінійний стан із двома різними часовими періодами генерації сили (рис. 1 (3, 4, 5)) відображає перехід м'яза на новий стаціонарний рівень скорочення, і в цьому випадку показує не тільки зміну швидкості генерації сили скорочення, а й зміну біомеханіки скорочення в цілому як найбільш інерційного елемента скоротливого акту.

Таким чином, зміна структури динамічного компонента м'язової відповіді при дії досліджуваного пестициду визначала швидкість і амплітуду руху, тоді як статичний компонент скоротливої реакції відігравав важливу роль у встановленні рівноважного стаціонарного стану скорочення м'язових волокон. Перехід до утримання нового рівня рівноважної сили може бути пов'язаний з підключенням енергетично вигідних механізмів, які дали змогу мінімізувати рівень впливу пестициду.

Варто відзначити, що на зменшення швидкості зміни сили скорочення в концентраціях $1 \cdot 10^{-6}$; $2,5 \cdot 10^{-6}$; $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л може впливати пасивний механічний процес зміни довжини м'язових волокон у процесі скорочення і вплив на зміни жорсткісних та еластичних компонентів м'яза досліджуваного пестициду.

Висновки. Проведений аналіз динамічних властивостей силової активності м'язових волокон засвідчує те, що динаміка рухів під дією діазинону багато в чому визначається не лише його концен-трацією, а й динамічними компонентами пулів моторних команд і планованих рухів ЦНС. Корекція точнісного позиціонування суглобів у м'язових системах, що піддалися дії діазинону, на нашу думку, може бути забезпечена диференціюванням низхідних рухових команд, пов'язаних з адаптаційними процесами в м'язових волокнах або динамічними перетвореннями в сигналах зворотного зв'язку, що поступають в ЦНС від м'язових пропріоцепторів. Реалізація низхідних моторних команд, які сфор-мовані у вищих рухових центрах, має зазнавати істотних динамічних перетворень унаслідок їх неадекватного виконання м'язами, які піддалися дії діазинону. Це, на нашу думку, не дає змоги коректувати інерційність м'язового скорочення і точність виконання рухових команд.

Література

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 токсикологии.* – 2007. – № 2. – С. 45–49.
2. Штабський Б. М. Ксенобіотики, гомеостаз і хімічна безпека людини / Б. М. Штабський, М. Р. Гжегоцький. – Л. : Наутілус, 1999. – 307 с.
3. Tashev T. S. Stomach and duodenal lesions in patients with acute organophosphorus pesticide poisonings / T. S. Tashev, D. Markov // *Vutr Boles.* –1991. – Vol. 30, №2. – P. 61–65.
4. Webster L. R. Organophosphate-based pesticides and genetic damage implicated in bladder cancer / L. R. Webster, G. H. McKenzie, H. T. Moriarty // *Cancer Genet Cytogenet.* – 2002. – Vol. 133, № 2. – P.112–117.
5. Ефременко Е. Н. Ферменты деструкции фосфорорганических нейротоксинов / Е. Н. Ефременко, С. Д. Варфоломеев // *Успехи биологической химии.* – 2004. – Т. 44. – С. 307–340.
6. Ferdinand N. Effects of pirimiphos-methyl (an organophosphate insecticide) on the fertility of adult male rats / N. Ferdinand, W. Pierre, D. Marie-Chantal et al. // *Afr Health Sci.* – 2007. – Vol. 7, №1. – P. 3–9.
7. Lukaszewicz-Hussain A. Organophosphate insecticide chlorfenvinphos affects superoxide dismutase, catalase and malondialdehyde in rat liver / A. Lukaszewicz-Hussain // *Polish Journal of Environmental Studies.* – 2001. – Vol. 10, № 4. – P. 279–282.
8. Blain P. G. Adverse health effects after low level exposure to organophosphates / P. G. Blain // *Occup Environ Med.* – 2001. – Vol. 58. – P. 689–690.
9. Karalliede L. Effect of organophosphates on skeletal muscle / L. Karalliede, J. A. Henry // *Hum Exp Toxicol.* – 1993. – Vol.12. – P. 289–296.
10. De Bleecker J. Prolonged toxicity with intermediate syndrome after combined parathion and methyl parathion poisoning / J. De Bleecker, J. Willems, K. Van Den Neucker et al // *J Toxicol-Clin Toxicol.* – 1992. – Vol. 30. – P. 333–345.

Статтю подано до редколегії
19.04.2011 р.