

## ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ И СИЛОВЫЕ ОТВЕТЫ МЫШЦ ГОЛЕНИ КРЫСЫ ПОСЛЕ ОДНОСТОРОННЕЙ КОМПРЕССИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА И СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ ГАММА-ГИДРОКСИБУТИРАТА

Поступила 05.07.12

В острых экспериментах на крысах исследовали влияние курсового системного введения натрия гамма-гидроксибутирата (ГГОБ, 100 мг/кг, внутривенно, ежедневно в течение трех недель) на последствия передавливания правого седалищного нерва (СН). В контрольной группе животным передавливали нерв, но ГГОБ не вводили. Регистрировали электрические и силовые ответы *m. gastrocnemius+soleus* (GS) и *m. tibialis anterior* (TA), вызываемые стимуляцией *n. tibialis comm.* и *n. peroneus comm.* на стороне повреждения СН и противоположной интактной стороне. Компрессия СН обуславливала у животных контрольной группы (которым ГГОБ не вводили) значительное увеличение порога и хронаксии при раздражении нервов, уменьшение амплитуды ЭМГ-ответов мышц и увеличение латентных периодов (ЛП) этих реакций, а также уменьшение величины усилий, развиваемых при одиночных и тетанических изометрических сокращениях указанных мышц. На стороне компрессии кривые восстановления вторых ответов мышц в условиях парной стимуляции нервов сдвигались в сторону больших межстимульных интервалов. Курсовое введение ГГОБ вызывало более чем двукратное возрастание порогов при раздражении нервов по сравнению с контролем; значения же хронаксии уменьшались. Амплитуды ЭМГ-ответов мышц после инъекций ГГОБ были меньше, чем в контроле, а ЛП таких реакций – продолжительнее. Кривые восстановления вторых ответов в этих условиях смещались в сторону более коротких межстимульных интервалов. Влияние ГГОБ обуславливало заметное увеличение силовых ответов тестируемых мышц. Такие изменения наблюдались билатерально, причем относительная интенсивность соответствующих сдвигов на стороне компрессии СН и на противоположной стороне была близкой. Обсуждаются возможные механизмы влияния ГГОБ на состояние нервно-мышечного аппарата конечности при компрессионном повреждении крупного нервного ствола, приводящем к развитию травматической нейропатии.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** гамма-гидроксибутират натрия, компрессия седалищного нерва, травматическая нейропатия, возбудимость нервов, ЭМГ-ответы мышц, мышечная сила.

### ВВЕДЕНИЕ

Гамма-гидроксимасляная кислота (ГГОМК) является близким структурным аналогом гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) – основного тормозного нейротрансмиттера в ЦНС, играющего важнейшую роль в реализации рефлекторных процессов в центральных структурах, в том числе процессов, обеспечивающих управление движениями.

ГГОМК является естественным метаболитом, присутствующим в небольших количествах в ЦНС

человека и животных, а также в ряде пищевых продуктов. Поскольку оказалось, что данный агент обладает свойствами общего анестетика, снотворного и нейропротектора, а также позитивно влияет на энергетический метаболизм (при этом, в отличие от ГАМК, он проникает через гемато-энцефалический барьер), ГГОМК нашла применение в клинике, в частности для лечения ряда нервно-психических расстройств и алкоголизма. В настоящее время, однако, использование в медицине ее ограничено и в большинстве стран жестко регламентируется из-за наличия существенных психотропных эффектов, токсичности и трудностей с дозированием [1].

<sup>1</sup> ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины» (Украина). Эл. почта: tatiana\_mashko@mail.ru (Т. В. Демченко).

Влияния ГГОМК, очевидно, реализуются через ряд механизмов. Прежде всего, она является агонистом (хотя и слабым) ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов. Далее, она может конвертироваться в ГАМК (реакция опосредуется ГАМК-трансаминазой), что приводит к повышению уровня этого важнейшего тормозного нейротрансмиттера [2–5]. В то же время ГГОМК способна действовать и через ГАМК-независимый механизм, поскольку в ЦНС для нее существуют собственные рецепторы [1, 6, 7]. Следует, однако, признать, что механизмы действия ГГОМК в ряде аспектов остаются до конца не изученными и дискуссионными [1].

Несмотря на это, соли ГГОМК (прежде всего натрия гамма-гидроксibuтират – ГГОБ) достаточно широко используются в экспериментальных исследованиях и клинической практике. Следует отметить, что в фармакологической номенклатуре, принятой в СССР, ГГОБ ранее именовался не гамма-гидрокси-, а гамма-оксибутиратом (ГОБ), и такая аббревиатура постоянно использовалась в соответствующих публикациях. Натрия ГГОБ применяется в клинике как одно из сопутствующих средств при создании общей анестезии [8]. Его достаточно широкое использование обусловлено, кроме всего прочего, тем, что данный агент проявляет очевидные органопротективные и антигипоксические свойства. Сообщалось, что ГГОБ может действовать в качестве трофического фактора [9], обладает ноотропной активностью [10] и увеличивает энергетическую мощность митохондрий [11]. На сегодняшний день ГГОБ считается относительно эффективным средством, обеспечивающим повышение выносливости тканей организма при негативных воздействиях на них.

Очевидно, что травмы периферических нервов приводят к дегенерации поврежденных волокон и существенным нарушениям метаболизма на целом ряде регуляторных уровней [12,13]. Степень регенерации нерва и скорость восстановления мышечной активности существенно зависят от уровня выносливости поврежденной нервной ткани (в упомянутых выше условиях повреждения в значительной мере определяются развитием гипоксии) и от возможности снабжения данной ткани дополнительными энергетическими резервами. Поэтому выяснение феноменологии и механизмов влияния ГГОБ (т. е. агента, проявляющего, как упоминалось выше, протективные и антигипоксические свойства) на нервно-мышечный аппарат и его звенья в условиях травмы крупного нерва представляет не-

сомненный интерес.

Данные о влиянии ГАМК или ГГОБ на процесс возбуждения двигательных мышечных волокон у млекопитающих, сократительные свойства скелетных мышц и, тем более, на динамику реиннервации и восстановления силы сокращения мышц после травмы нерва весьма ограничены. Существуют указания на релаксирующее действие ГАМК на скелетную мускулатуру млекопитающих [15].

Ранее мы обнаружили [16], что системное введение натрия ГГОБ крысам в условиях травмирования одного из седалищных нервов (СН) ускоряет восстановление силы произвольных сокращений мышц на стороне повреждения и обеспечивает повышение данного показателя у мышц контралатеральной интактной конечности. Поэтому в настоящей работе мы исследовали влияния длительного системного введения ГГОБ на состояние нервно-мышечного комплекса (ветвей СН и мышц голени) поврежденной и интактной конечностей крыс с унилатеральным компрессионным повреждением СН. В острых опытах после курса таких введений стимулировали большеберцовые и малоберцовые порции СН и регистрировали характеристики возбудимости данных нервных стволов, вызванную ЭМГ-активность (М-ответы) разгибателей и сгибателей лодыжки – *mm. gastrocnemius + soleus (GS)* и *tibialis anterior (TA)* – и силовые ответы указанных мышц.

## МЕТОДИКА

Исследование было выполнено на взрослых белых крысах-самцах линии Вистар ( $n = 31$ , масса тела 200–220 г), которым предварительно передавливали правый СН (методика была описана ранее [16]); СН левой конечности оставался интактным. Животным первой группы ( $n = 18$ ) системно вводили натрия ГГОБ (100 мг/кг, внутривенно) ежедневно в течение трех недель после передавливания нерва. Животным второй (контрольной) группы ( $n = 13$ ) нерв передавливали, но ГГОБ не вводили.

В острый эксперимент для исследования показателей функционального состояния ветвей регенерирующего нерва и реиннервируемых мышц животных брали на 22-е сутки после операции (в первой группе – спустя 24 ч после последнего введения ГГОБ). Для исключения надсегментарных влияний спинной мозг под тиопенталовой анесте-

зией (50 мг/кг, внутривенно) перерезали на уровне сегментов  $Th_{12}-L_1$ . СН обеих задних конечностей выделяли и перевязывали на уровне верхней трети бедра. Температуру тела животного контролировали и поддерживали на уровне  $37 \pm 2$  °С [17]. Животное помещали в станок с арматурой, позволяющей регистрировать мышечные сокращения; бедренные кости жестко фиксировали. Все манипуляции с нервами выполняли под слоем вазелинового масла. Дистальные участки СН разделяли на большеберцовую (*n. tibialis comm.*) и малоберцовую (*n. peroneus comm.*) порции, которые размещали на раздражающих электродах. Регистрацию электрических и силовых ответов начинали через 1.5–2 ч после хордотомии. Измеряли параметры возбудимости нервов (порог и хронаксию), а также амплитуду и латентный период (ЛП) суммарных ЭМГ-потенциалов действия (М-ответов), отводимых от *GS* и *TA* как денервированной, так и интактной (контралатеральной) конечности. Данные ответы вызывали стимуляцией *n. tibialis* и *n. peroneus*, ветви которых, соответственно, иннервируют указанные мышцы, и отводили, используя обычную методику (применяли серебряные игольчатые электроды с межэлектродным расстоянием 4 мм). Ток стимуляции измеряли, определяя падение напряжения на стандартном сопротивлении (обычно 100 Ом), включенном последовательно в цепь раздражения. Сократительную активность мышц оценивали, используя тензометрическую методику. Для этого у животных выделяли дистальные сухожилия *GS* и *TA* и присоединяли их к тензодатчикам [18]. Мышцы препарировали, тщательно сохраняя иннервацию и кровоток. Сокращения мышц происходили в изометрическом режиме при исходной фоновой силе растяжения, являющейся оптимальной нагрузкой для «быстрых» мышц крысы (0.6 Н) [19]. Для раздражения нервов использовали прямоугольные электрические стимулы длительностью 0.3 мс. Пороги возбуждения нервов определяли согласно порогам возникновения минимальных ЭМГ-ответов в мышцах, иннервируемых волокнами данных стволов. Для определения характеристик ЭМГ-ответов и силовых реакций использовалась супрамаксимальная интенсивность стимуляции (подбиралась экспериментально); таким образом, мышцы развивали максимальные усилия. Применяли одиночные и ритмические (серии из 19 стимулов, наносимых с частотой  $90 \text{ с}^{-1}$ ) раздражения. Вначале тестировали сократительную активность мышцы путем нанесения трех одиночных стиму-

лов (с достаточными интервалами), а затем регистрировали тетаническое сокращение. Кроме усилий, развиваемых при одиночном и тетаническом сокращениях, определяли временные параметры одиночного сокращения (длительности фаз напряжения и полурасслабления).

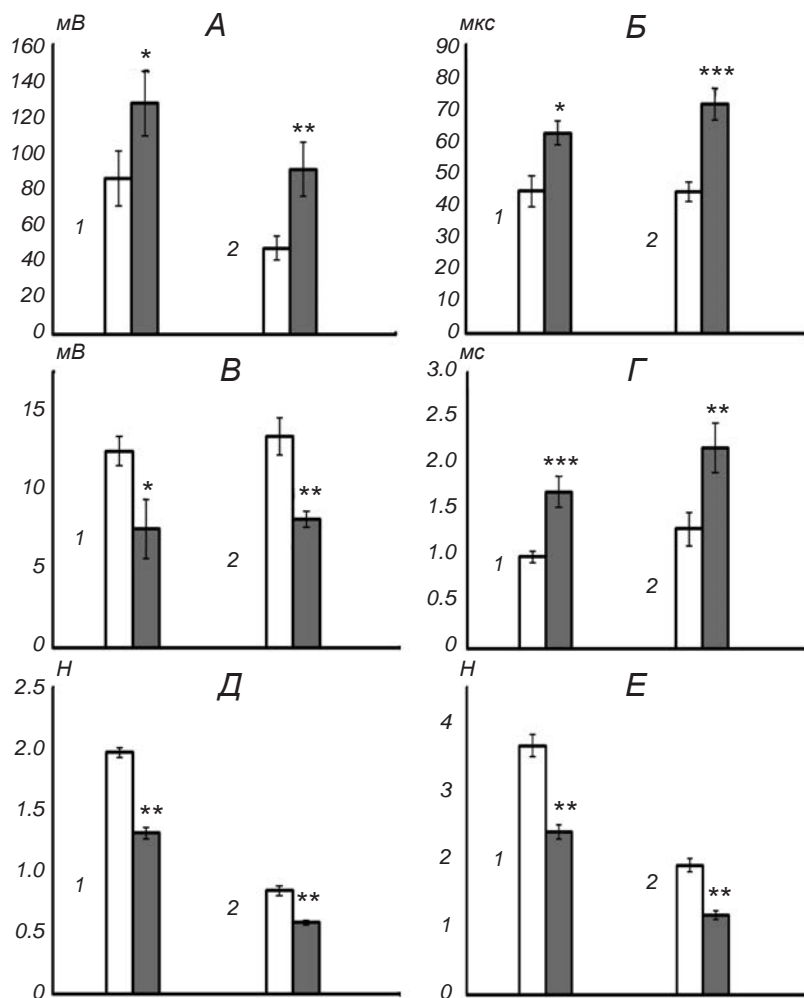
Числовые результаты анализировали, применяя программу «StatPlus» и рассчитывая средние значения и ошибки средних. Поскольку проверка нормальности распределений полученных значений, как правило, давала положительные результаты, при межгрупповом сравнении данных применяли *t*-критерий Стьюдента.

В опытах соблюдались нормы и рекомендации Европейской конвенции по использованию позвоночных животных для экспериментальных целей. Эвтаназию животных осуществляли путем введения тиопентала натрия в летальной дозе.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Передавливание СН обуславливало существенные изменения возбудимости ветвей данного нерва и характеристик электрических и силовых ответов, которые вызывались электрическим раздражением этих ветвей в мышцах голени. Порог возбуждения *n. tibialis* на стороне травмы у животных второй (контрольной) группы, не подвергавшихся воздействию ГГОБ, превышал соответствующее среднее значение на контралатеральной интактной стороне почти в полтора раза (на 48.1 %); для *n. peroneus* аналогичное превышение было еще большим, почти двукратным (в среднем по группе на 91.6 %; рис. 1, А). Существенно увеличивались и значения хронаксии; для упомянутых ветвей СН на стороне травмы они превышали величины этого параметра на интактной стороне в среднем на 40.7 и 61.7 % соответственно (Б).

В условиях наших экспериментов передавливание правого СН приводило к значительным изменениям электрической и механической вызванной активности мышц голени – экстензоров и флексоров лодыжки, *GS* и *TA*. Средние значения амплитуды максимальных суммарных ЭМГ-потенциалов действия (М-ответов) этих мышц на стороне повреждения были снижены, составляя в среднем 62.3 (*GS*) и 62.7 (*TA*) % соответствующих значений у контралатеральных мышц (рис. 1, В). Латентные периоды (ЛП) данных ответов *GS* и *TA* справа (на стороне компрессии СН) превышали норму (слева,



**Р и с. 1.** Влияние передавливания седалищного нерва (СН) на функциональные характеристики нервов задней конечности (А, Б) и мышц голени (В–Е) у крыс контрольной (второй) группы. А – порог возникновения (мВ) ЭМГ-ответов мышц, Б – хронаксия (мс) при стимуляции *n. tibialis* (1) и *n. peroneus* (2); В – амплитуда (мВ) максимальных ЭМГ-ответов мышц. Г – латентный период этих ответов (мс), Д и Е – усилия (Н), развиваемые при максимальных одиночных (Д) и тетанических (Е) изометрических сокращениях *mm. gastrocnemius+soleus* (1) и *tibialis anterior* (2). Темные столбцы – значения на стороне передавливания СН, светлые – на интактной стороне (контралатеральная конечность). Измерения производились на 22-е сутки после компрессии СН. Одной, двумя и тремя звездочками обозначены случаи достоверных различий средних значений с  $P < 0.05$ ,  $< 0.01$  и  $< 0.001$  соответственно.

**Р и с. 1.** Вплив передавлювання сидничного нерва на функціональні характеристики нервів задньої кінцівки (А, Б) і м'язів гомілки (В–Е) у щурів контрольної (другої) групи.

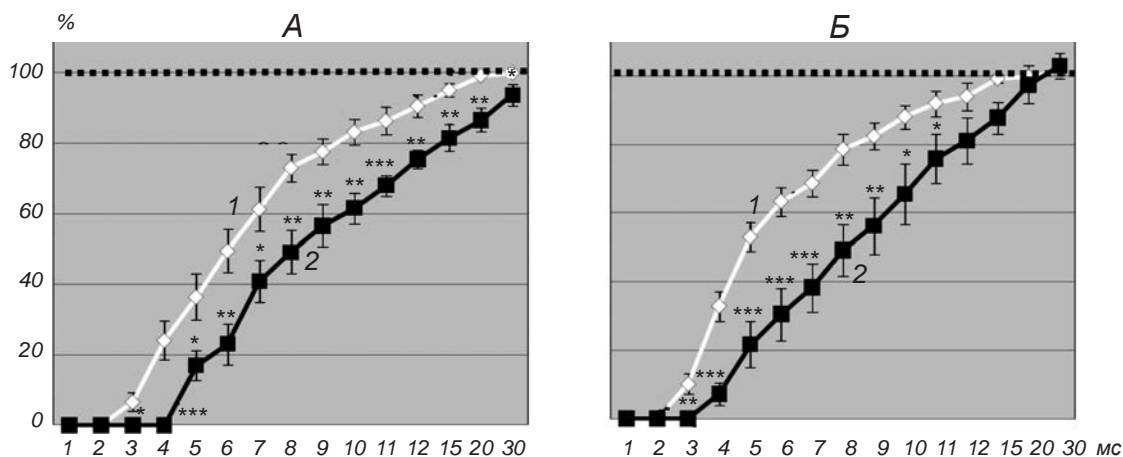
на интактной стороне) в среднем на 70 % (Г).

На стороне травмы СН усилия, развиваемые *GS* и *TA* при супрамаксимальных одиночных раздражениях ветвей этого нерва (*n. tibialis* и *n. peroneus*), составляли в среднем лишь 66.5 и 69.0 % соответствующих значений на интактной стороне (рис. 1, Д). Амплитуды силовых ответов в условиях тетанических сокращений данных мышц на травмированной стороне были снижены по сравнению с нормой несколько больше (65.5 и 61.6 % аналогичных значений для контралатеральных мышц) (Е).

Парная стимуляция большеберцовой и малоберцовой ветвей СН с разными временными интервалами (1–30 мс) позволила определить рефрактерность возбуждения мышц на интактной и травмированной сторонах и динамику восстановления второго ЭМГ-ответа *GS* и *TA* (рис. 2). Минимальные ЭМГ-ответы этих мышц на стороне компрессии возникали позже (при межстимульных интервалах 3–4 мс), чем на интактной (при ин-

тервалах 1–2 мс). Кривые восстановления вторых ЭМГ-ответов и *GS* и *TA* на стороне компрессии СН были существенно сдвинуты в сторону больших межстимульных интервалов, и средние амплитуды таких ответов, вызванных действием второго стимула при равных интервалах, на интактной стороне и стороне травмы СН демонстрировали высокодостоверные различия.

Курсовое введение натрия ГГОб крысам первой группы в течение 21 дня обуславливало заметные изменения показателей возбудимости ветвей СН и характеристик электрических и силовых ответов мышц голени, вызванных стимуляцией соответствующих нервных стволов. При этом относительная степень таких индуцированных ГГОб сдвигов (нормированных относительно средних значений соответствующих показателей на стороне компрессии и на контралатеральной интактной стороне у животных второй, контрольной, группы) оказалась в большинстве случаев довольно близкой.



**Р и с. 2.** Влияние передавливания седалищного нерва (СН) на динамику восстановления второго ЭМГ-ответа мышц голени при парной стимуляции нервов у крыс контрольной (второй) группы.

*A, Б* – ответы *mm. gastrocnemius+soleus*, вызываемые стимуляцией *m. tibialis*, и ответы *m. tibialis ant.*, вызываемые стимуляцией *n. peroneus*. По оси абсцисс – межстимульный интервал (мс), по оси ординат – амплитуда второго ответа, нормированная относительно амплитуды первого ответа, принятой за 100 %. *1* и *2* – при раздражении конралатеральных нервов и нервов на стороне передавливания СН соответственно. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

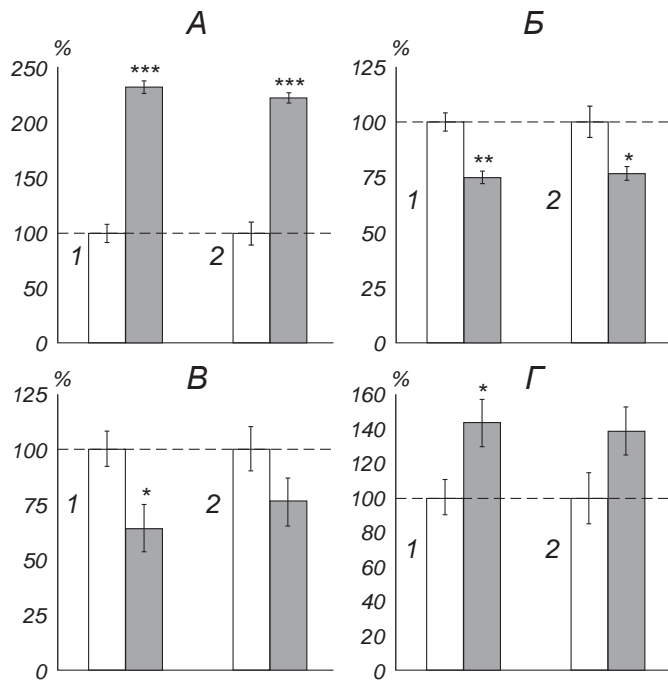
**Р и с. 2.** Вплив передавливання сідничного нерва на динаміку відновлення другої ЕМГ-відповіді м'язів гомілки при парній стимуляції нервів у щурів контрольної (другої) групи.

Наиболее существенно под влиянием инъекций ГГОБ изменялись пороги возбуждения *n. tibialis* и *n. peroneus* – у крыс первой группы они превышали соответствующие значения во второй (контрольной) группе более чем вдвое. Средние величины порога для первого из упомянутых нервов после введения ГГОБ составляли 232.3 % на стороне передавливания и 222.5 % на противоположной стороне по сравнению с аналогичными величинами у крыс второй группы, которым ГГОБ не вводили. Для *n. peroneus* соответствующие нормированные значения равнялись 227.4 и 232.4 % (рис. 3, *A*; 4, *A*). Такие сдвиги сопровождались заметными противоположными изменениями значений хронаксии. Последние величины для *n. tibialis* у крыс первой группы после введения ГГОБ на стороне травмы и интактной стороне были заметно меньше (на 25.1 и 21.0 % соответственно), чем во второй группе (рис. 3, *B*; 4, *B*). Аналогичное сокращение хронаксии *n. peroneus* на стороне компрессии составляло 23.3 % (рис. 3, *B*, 2). Хронаксия у *n. peroneus* на интактной стороне была исключением: введение ГГОБ слабо влияло на этот параметр, и его значения в первой и второй группах животных были весьма близки (рис. 4, *B*, 2).

Курсовое введение натрия ГГОБ обуславливало заметное снижение максимальных амплитуд ЭМГ-ответов обеих исследованных мышц и на стороне

передавливания СН, и на противоположной (интактной) стороне. Средние значения этого параметра у *GS* и *TA* на стороне повреждения СН у крыс первой группы составляли 65.0 и 77.3 % соответствующих значений на той же стороне у животных второй группы (рис. 3, *B*). Аналогичные значения у конралатеральных *GS* и *TA* после инъекций ГГОБ равнялись 74.5 и 66.8 % (рис. 4, *B*). ЛП упомянутых ЭМГ-ответов под влиянием инъекций ГГОБ претерпевали сдвиги, близкие по относительной величине, однако эти сдвиги были противоположными по направленности – данные параметры увеличивались. ЛП указанной реакции *GS* и *TA* на стороне повреждения после введения ГГОБ превышали соответствующие значения во второй (контрольной) группе на 43.5 и 37.6 %, а на интактной (левой) стороне – на 40.6 и 27.4 % соответственно (рис. 3, *Г*; 4, *Г*).

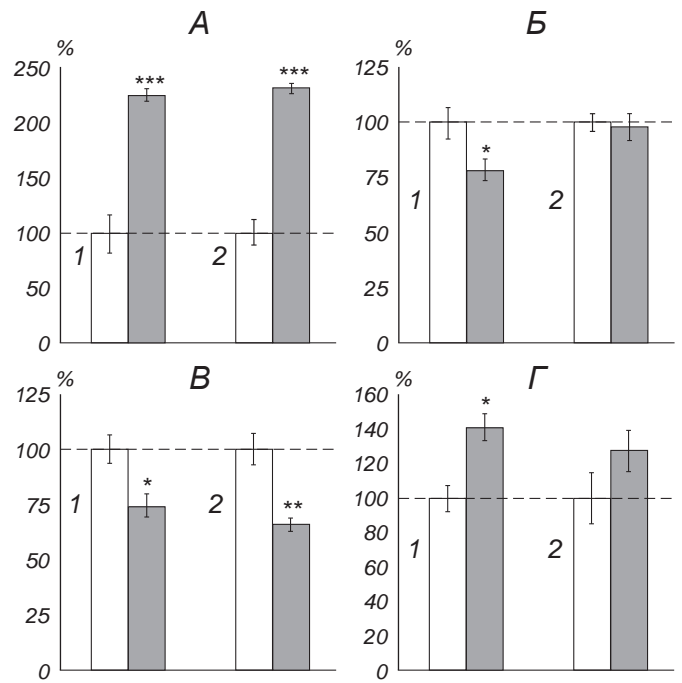
Курс введенный натрия ГГОБ существенно влиял на динамику восстановления второго ЭМГ-ответа обеих исследованных мышц голени при парных раздражениях ветвей СН на стороне компрессионного повреждения. Как уже упоминалось, рефрактерные периоды после первого раздражения соответствующих нервов на стороне компрессии были значительно продолжительнее, чем в контроле, а кривые восстановления были сдвинуты в сторону больших межстимульных интервалов. Инъекции



**Р и с. 3.** Влияние курсового введения натрия гидроксibuтирата (ГГОБ) на характеристики возбудимости нервов и ЭМГ-ответы мышц голени крыс, измеренные после передавливания седалищного нерва на стороне компрессии. Приведены нормированные значения (%) параметров; во всех случаях за 100 % приняты контрольные значения (белые столбцы). *A* – значения порога, *B* – хронаксии при стимуляции *m. tibialis* (1) и *n. peroneus* (2); *B* – значения амплитуды, *Г* – латентного периода ЭМГ-ответов *m. gastrocnemius+soleus* (1) и *m. tibialis anterior* (2), вызываемых стимуляцией этих нервов. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1 и 2.

**Р и с. 3.** Вплив курсового введення натрію гідроксibuтирату на характеристики збудливості нервів та ЕМГ-відповіді м'язів голілки щурів, виміряні після передавлювання сідничного нерва на боці компресії.

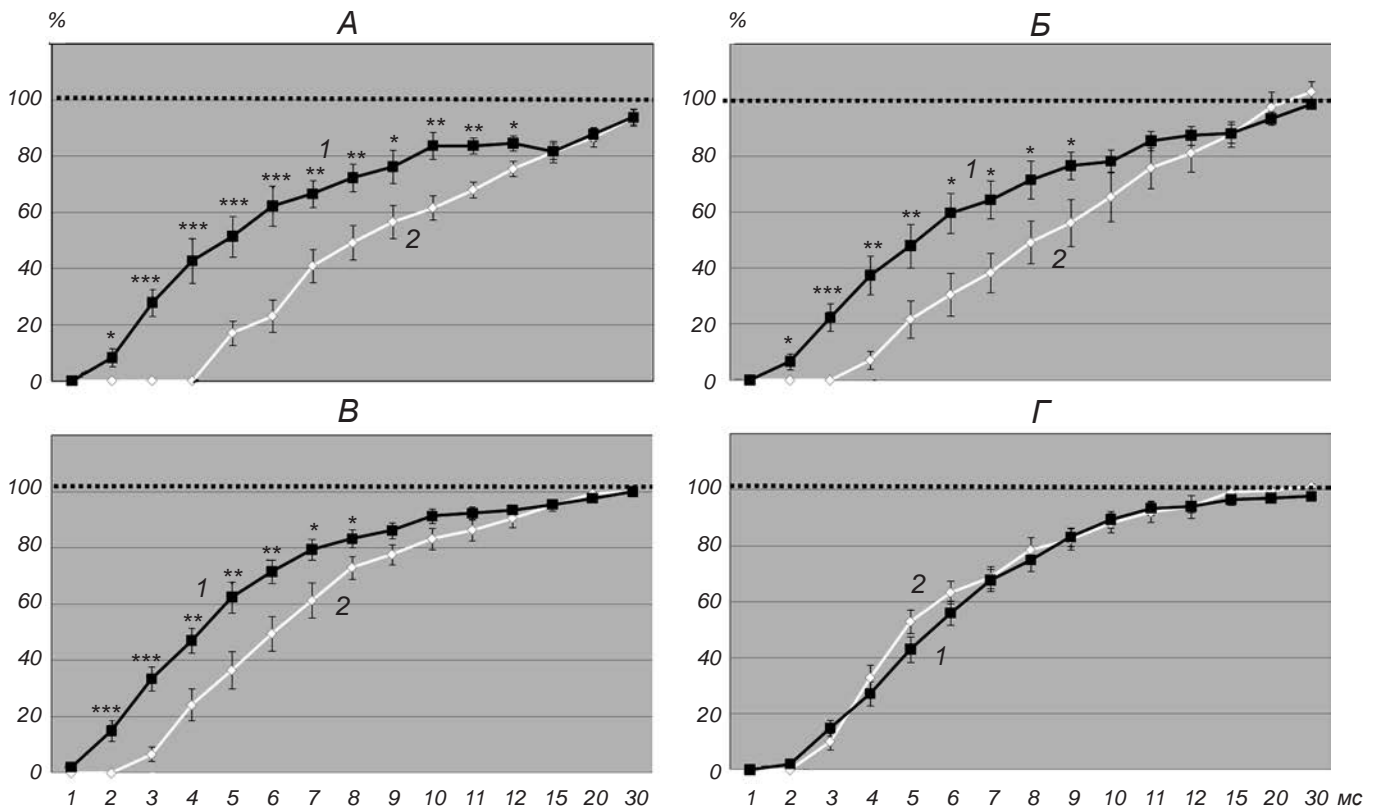
же ГГОБ приводили к значительному сокращению рефрактерного периода при парной стимуляции, и восстановление амплитуды вторых ЭМГ-ответов в таких условиях происходило при существенно более коротких межстимульных интервалах (рис. 5, *A*, *B*). Аналогичный эффект наблюдался в отношении ответов у *m. GS* у животных экспериментальной группы и на интактной стороне, противоположной месту компрессии СН (*B*). В то же время у *TA* на этой стороне подобный эффект практически отсутствовал – кривые восстановления в условиях парной стимуляции *n. peroneus* у животных первой (экспериментальной) и второй (контрольной) групп почти совпадали (*Г*).



**Р и с. 4.** Влияние введения натрия гидроксibuтирата (ГГОБ) на нормированные характеристики возбудимости нервов и ЭМГ-ответы мышц голени, измеренные после передавливания седалищного нерва на интактной стороне (контралатерально). Обозначения те же, что и на рис. 3.

**Р и с. 4.** Вплив введення натрію гідроксibuтирату на нормовані характеристики збудливості нервів та ЕМГ-відповіді м'язів голілки, виміряні після передавлювання сідничного нерва на інтактному боці (контралатерально).

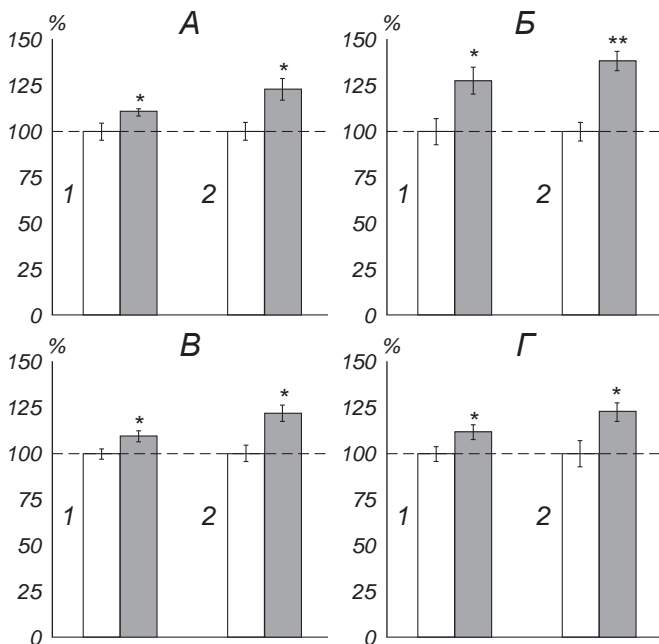
Системное введение натрия ГГОБ также заметно влияло на силовые ответы *GS* и *TA*, вызванные стимуляцией *n. tibialis* и *n. peroneus*, причем соответствующие изменения оказались противоположными тем, которые наблюдались у электрических ответов упомянутых мышц. Как уже отмечалось, амплитуды ЭМГ-реакций (М-ответов) названных мышц после курсовых инъекций ГГОБ и в первой, и во второй группе животных заметно уменьшались. Усилия же, развиваемые *GS* после одиночной и тетанической стимуляции *n. tibialis*, на стороне травмы СН у крыс первой группы были больше, чем таковые у животных второй группы (которым ГГОБ не вводили), в среднем на 11.4 и 23.0 % (рис. 6, *A*). У *TA* соответствующие инкременты составляли 27.6 и 35.0 % (*B*). На контралатеральной интактной стороне аналогичные превышения равнялись 7.1 и 24.4 % для *GS* (*B*) и 19.0 и 22.6 % для *TA* (*Г*).



**Р и с. 5.** Влияние введения натрия гидроксibuтирата (ГГОБ) на динамику восстановления второго ЭМГ-ответа мышц голени при парной стимуляции нервов.

A, B – динамика амплитуды ответов *m. gastrocnemius+soleus*, B, Г – *m. tibialis anterior*; A, Б – на стороне передавливания седалищного нерва, B, Г – на интактной стороне (контралатерально). 1 – значения в первой (экспериментальной) группе после курса введения ГГОБ, 2 – во второй (контрольной) группе. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

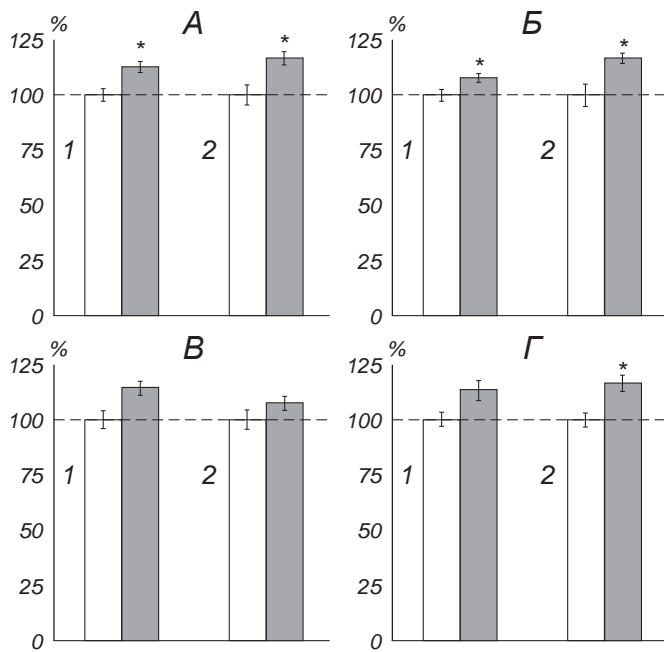
**Р и с. 5.** Вплив введення натрію гідроксибутирату на динаміку відновлення другої ЕМГ-відповіді м'язів голілки при парній стимуляції нервів.



**Р и с. 6.** Влияние курсового введения натрия гидроксibuтирата (ГГОБ) на силовые ответы *m. gastrocnemius+soleus* (A, B) и *tibialis anterior* (B, Г) на стороне передавливания седалищного нерва (A, Б) и на интактной стороне (B, Г).

Белые столбцы – значения во второй (контрольной) группе животных, принятые за 100 %; темные столбцы – значения (%) в первой группе крыс, которым вводили ГГОБ. 1 и 2 – значения усилий, развиваемых при одиночных и тетанических сокращениях соответственно. Остальные обозначения те же, что и на рис. 3 и 4.

**Р и с. 6.** Вплив курсового введення натрію гідроксибутирату на силові відповіді *m. gastrocnemius+soleus* (A, B) і *tibialis anterior* (B, Г) на боці передавлювання сідничного нерва (A, Б) і на інтактному боці (B, Г).



**Р и с. 7.** Влияние курсового введения натрия гидроксibuтирата (ГГОБ) на длительность фаз напряжения (1) и полурасслабления (2) одиночных сокращений *m. gastrocnemius+soleus* (A, B) и *m. tibialis anterior* (B, Г) на стороне передавливания седалищного нерва (A, B) и на интактной стороне (B, Г).

Значения нормированы относительно таковых во второй (контрольной) группе животных, принятых за 100%. Остальные обозначения те же, что и на рис. 6.

**Р и с. 7.** Вплив курсового введення гідроксibuтирату на тривалість фаз напруження (1) і напіврозслаблення (2) поодиноких скорочень *m. gastrocnemius+soleus* (A, B) і *m. tibialis anterior* (B, Г) на боці передавлювання сідничного нерва (A, B) і на інтактному боці (B, Г).

Системное введение натрия ГГОБ влияло также на временные характеристики изометрических сокращений *GS* и *TA* и на стороне травмирования СН, и на интактной стороне. Длительности фазы напряжения и периода полурасслабления этих мышц при раздражении соответствующих ветвей СН у крыс первой группы были на 8.8–18.0 % продолжительнее, чем у животных второй группы, которым ГГОБ не вводили (рис. 7, А–Г).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Передавливание одного из СН у экспериментальных животных (крыс) приводит к развитию выраженной травматической периферической нейропатии на стороне повреждения. При этом патологические изменения на противоположной стороне, очевидно, минимальны, что дает возможность использовать измеряемые показатели интактных нервно-мышечных структур как контрольные значения [11–13]. В пределах интервала времени после травмы, принятого в нашей работе (три недели), наблюдаемые изменения определяются весьма сложным взаимодействием денервационных и регенерационных процессов в нервных стволах и постденервационными сдвигами в иннервируемых мышцах [12, 16]. В условиях клиники посттравматическая нейропатия характеризуется сочетанием

двигательных, сенсорных и вегетативно-трофических нарушений, особенно выраженных в дистальных отделах конечностей [12].

Как показали результаты наших измерений, которые в основном согласуются с имеющимися литературными данными [11–14], посттравматическая нейропатия характеризуется существенным снижением возбудимости дистальных (по отношению к месту компрессии СН) участков волокон этого нерва, формирующих его ветви *n. tibialis comm.* и *n. peroneus comm.* (рис. 1, А), и заметным увеличением значений хронаксии указанных нервных стволов (Б). Значительно уменьшаются амплитуды ЭМГ-ответов *mm. GS* и *TA*, иннервируемых волокнами данных нервов (В), увеличиваются ЛП таких ответов (Г) и падает сила изометрических сокращений упомянутых мышц (Д, Е). Очевидно, что в результате компрессии СН развиваются процессы демиелинизации двигательных нервных волокон и их дегенерации. Именно с этим в основном связаны повышение порога при электрической стимуляции разветвлений СН и подавление вызванной ЭМГ-активности иннервируемых мышц. Возрастание ЛП мышечных ответов, видимо, в основном является результатом снижения скорости проведения по тем двигательным волокнам в составе *n. tibialis* и *n. peroneus*, которые частично сохранили свои функциональные возможности. Вероятно, какое-то значение при этом имеют и изменения



временных характеристик синаптической передачи в нервно-мышечных соединениях, но относительный вклад таких сдвигов в увеличение задержек активации исследуемых мышц вряд ли особо значителен. Определенную роль в нарушении проводимости по нерву играет развитие венозного застоя и отека внутри поврежденных стволов [12, 14, 20, 21]. Одним из важнейших факторов, с которыми связаны негативные влияния на нервные волокна, выступает состояние генерализованной гипоксии в поврежденных структурах. Выраженное удлинение фазы абсолютной рефрактерности нервно-мышечной передачи в условиях парной стимуляции нервов и сдвиги кривых восстановления ответов в область более длительных межстимульных интервалов по сравнению с тем, что наблюдается на интактной стороне (рис. 2), свидетельствуют об общем замедлении процессов возбуждения в результате травмирования нервных волокон. Снижение силы одиночных и тетанических сокращений мышц травмированной конечности (рис. 1, Д, Е), очевидно, связано с денервационной атрофией значительной части мышечных волокон и нарушениями в синаптических контактах с волокнами-мишенями [20, 21].

Курсовое введение натрия ГГОВ крысам первой группы оказывало многостороннее влияние на функциональное состояние нервно-мышечного аппарата поврежденной и интактной конечностей. Возбудимость ветвей СН снижалась, что проявлялось в более чем двукратном увеличении порогов возбуждения *n. tibialis* и *n. peroneus* в условиях прямой стимуляции мышц-целей по сравнению с аналогичными параметрами во второй группе крыс (рис. 3, А; 4, А). В данном случае, однако, значения хронаксии при стимуляции упомянутых нервов и на стороне травмы, и на противоположной стороне заметно уменьшались (рис. 3, Б; 4, Б). Амплитуда ЭМГ-ответов *mm. GS* и *TA* по сравнению с аналогичными показателями во второй (контрольной) группе крыс уменьшалась на 23–35 % (рис. 3, В; 4, В), а ЛП таких ответов на обеих сторонах были заметно продолжительнее (рис. 3, Г; 4, Г). Такие сдвиги параметров могут определяться изменениями в нервных волокнах, нервно-мышечных синапсах и/или в самих мышцах.

Вероятной существенной причиной снижения возбудимости нервных стволов и мышц после курсового введения ГГОВ является увеличение мембранного потенциала (МП) в этих структурах – их гиперполяризация. В регуляции мембранной воз-

будимости как нервных, так и мышечных волокон основную роль играют хлорные трансмембранные токи, в частности токи через хлорные С1-каналы [22, 23]. Снижение хлорной проводимости в скелетных мышцах ведет к развитию миотонии, определяемой гипервозбудимостью мембран [24]. В условиях наших опытов подобная гипервозбудимость, видимо, нейтрализуется за счет подавления возбудимости нервов. Известно, что внутриклеточная концентрация хлора ( $[Cl^-]_i$ ) в нейронах существенно изменяется под воздействием ГАМК. Данные эффекты опосредуются лигандзависимыми ГАМК<sub>A</sub>- и ГАМК<sub>C</sub>-рецептор-канальными комплексами [22, 25]. Денервация скелетных мышц у млекопитающих приводит к снижению хлорной проводимости мембран, связанному с изменением плотности С1-каналов [26–28] при одновременном повышении калиевой проводимости [26]. Следует полагать, что длительное поступление в организм натрия ГГОВ значительно влияет на ГАМК-систему, обеспечивая существенную модуляцию хлорной проводимости мембран нервных (преимущественно) и мышечных волокон и снижая возбудимость данных мембран.

Очевидно, что этим эффекты ГГОВ не ограничиваются. Параллельно со снижением возбудимости нервных и мышечных структур курсовое введение указанного агента приводило к заметному сокращению хронаксии при раздражении нервов (рис. 3, Б; 4, Б), т. е. обеспечивало эффект, противоположный наблюдаемому при компрессии СН. Значения хронаксии характеризуют скорость открывания натриевых каналов в мембранах возбудимых структур. Уменьшение хронаксии под влиянием ГГОВ, мобилизирующего энергетические и пластические резервы клетки [11], может быть обусловлено усилением активности «быстрых» натриевых каналов и/или натрий/калиевых насосов в мембранах нервных волокон [29]. Данные эффекты, видимо, в определенной степени противодействуют генерализованному снижению возбудимости нервно-мышечных структур под влиянием ГГОВ. Не исключено, что именно с указанными феноменами связаны сокращение периода рефрактерности при парных раздражениях нервов и соответствующие сдвиги кривых восстановления вторых ЭМГ-ответов, наблюдавшиеся в первой группе экспериментальных животных, которым вводили ГГОВ (рис. 5).

В некотором смысле парадоксальным оказалось влияние курсовых введений ГГОВ на силовые ответы исследуемых мышц задних конечностей. Как

уже упоминалось, такое воздействие приводило к уменьшению амплитуд ЭМГ-ответов этих мышц и на интактной стороне, и на стороне компрессии СН (где такие ответы уже были снижены в результате посттравматических дегенерационных изменений). Амплитуды же изометрических сокращений (и одиночных, и тетанических) *mm. GS* и *TA* в данных условиях заметно возрастали, причем эффекты были билатеральными (рис. 6). Можно предположить, что указанные изменения, а также некоторое удлинение фаз напряжения и полурасслабления мышц при их одиночных сокращениях (рис. 7) связаны с увеличением концентрации кальция в мышечных волокнах в результате длительного влияния ГГОБ. Не исключено, что это является существенным аспектом трофических влияний, оказываемых данным агентом. Известно, что удлинение упомянутых фаз сокращения относится к наиболее характерным изменениям сократительных свойств «быстрых» мышц после денервации [20, 30]. Изменения количества кальция, скорости его аккумуляции в саркоплазматическом ретикулуме и высвобождения из последнего в условиях денервации весьма сложны [31]. Мы можем лишь констатировать, что изменения характеристик сокращений мышц и на стороне денервации, и на противоположной стороне заставляют предполагать способность натрия ГГОБ существенно влиять на концентрацию кальция в саркоплазме. Нельзя также исключить того, что указанный агент может воздействовать на механизмы электромеханического сопряжения.

В настоящей работе не удалось выявить значительной специфики действия натрия ГГОБ на нервно-мышечный аппарат задней конечности крысы на стороне компрессионного повреждения СН. Такая избирательность если и проявлялась, то на уровне слабой тенденции (в части случаев относительные изменения функциональных параметров в первой группе животных на стороне компрессии были несколько более значительными, чем на интактной стороне). В то же время такая специфика наблюдалась нами ранее в ходе регистрации характеристик произвольной сократительной активности мышц при той же схеме введения препарата [16]. Возможно, данное обстоятельство связано с тем, что в настоящих экспериментах регистрации производились в условиях острых опытов («вторичная травма») и взаимодействия эффектов барбитурата (натрия тиопентала) и ГГОБ [32]. Это могло обуславливать нивелирование избирательности влия-

ний последнего на поврежденные ткани.

Показано, что в скелетных мышцах млекопитающих существуют специфические мембранные переносчики ГГОМК – монокарбоксилаты, существенно влияющие на перераспределение и накопление ГГОБ в тканях и его фармакологическое действие на последние. Активация данных транспортеров происходит при низких значениях pH и увеличении количества лактатов в среде [33], т. е. как раз в условиях, соответствующих состоянию денервации [12]. Механические травмы крупных нервов приводят к усилению продукции реактивных форм кислорода, интенсификации процессов свободнорадикального окисления, перекисного окисления липидов и изменениям липидного состава пораженных нервов [34]. Помимо этого, нарушается проницаемость нейронных мембран для  $Ca^{2+}$  [35], инактивируются мембраносвязанные ферменты, повреждаются протеиновые компоненты миелина; подавление энергетического метаболизма нарушает деятельность антиоксидантных энзимов и обуславливает развитие апоптотических изменений [36]. Таким образом, использование антигипоксических и антиоксидантных свойств ГГОБ может быть эффективным приемом коррекции метаболических нарушений в нервах и мышцах, связанных с денервацией. При этом определенные параллельные сдвиги под влиянием ГГОБ происходят и в интактных тканях нервно-мышечного аппарата. Общим результатом является увеличение (на стороне травмы – восстановление) силы мышечных сокращений в ходе как произвольной [16], так и искусственно вызванной (в настоящих экспериментах) активности. Известно, что ГГОБ проявляет существенные анаболические свойства в условиях хронического введения. В данном случае возрастает масса тела и увеличивается работоспособность мышц [10]. Указанные эффекты во всяком случае частично опосредуются повышением секреции соматотропного гормона (СТГ) под влиянием ГГОМК [37]. СТГ воздействует на генетический аппарат клеток, индуцируя усиление синтеза белков (за счет активации такого метаболического пути, как пептозный шунт) [8, 38]. Очевидно, что прирост силы мышечных сокращений под влиянием ГГОБ (даже в условиях некоторого подавления вызванной электрической активности мышц) мог происходить вследствие усиления синтеза сократительных белков. В целом же механизмы подобных эффектов, очевидно, требуют дальнейших исследований.

Таким образом, применение солей ГГОМК для коррекции последствий травматизации периферических нервных структур выглядит достаточно перспективным, несмотря на то, что механизмы действия данных агентов в ряде аспектов продолжают оставаться дискуссионными.

О. Г. Родинський<sup>1</sup>, І. Я. Сердюченко<sup>1</sup>, Т. В. Демченко<sup>1</sup>

ЕЛЕКТРИЧНІ ТА СИЛОВІ ВІДПОВІДІ М'ЯЗІВ ГОМІЛКИ ЩУРА ПІСЛЯ ОДНОБІЧНОЇ КОЛМПРЕСІЇ СІДНИЧНОГО НЕРВА І СИСТЕМНОГО ВВЕДЕННЯ ГАММА-ГІДРОКСИБУТИРАТУ

<sup>1</sup>ДУ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (Україна).

Резюме

У гострих експериментах на щурах лінії Вістар досліджували вплив курсового системного введення натрію гамма-гідроксибутирату (ГГОБ, 100 мг/кг, внутрішньоочеревинно, щоденно протягом трьох тижнів) на наслідки передавлювання правого сідничного нерва. У контрольній групі тваринам передавлювали нерв, але ГГОБ не вводили. Реєстрували електричні відповіді *m.gastrocnemius+soleus (GS)* і *m.tibialis anterior (TA)* викликані стимуляцією *n. tibialis comm.* і *n. peroneus comm.*, на боці ушкодження СН і протилежному інтактному боці. Компресія СН зумовлювала у тварин контралатеральної групи (котрим ГГОБ не вводили) значне збільшення порога і хронаксії в умовах подразнення нервів, зменшення амплітуди ЕМГ-відповідей м'язів та збільшення латентних періодів (ЛП) цих реакцій, а також зменшення величини зусиль, що розвивалися при поодиноких і тетаничних ізометричних скороченнях відповідей м'язів. На боці компресії криві відновлення других відповідей м'язів в умовах парної стимуляції нервів зміщувались у бік більших міжстимульних інтервалів. Курсове введення ГГОБ викликало більш ніж дворазове зростання порогів при подразненні нервів у порівнянні з контролем; значення ж хронаксії зменшувались. Амплітуди ЕМГ-відповідей м'язів після ін'єкцій ГГОБ ставали меншими, ніж у контролі, а ЛП таких реакцій – тривалішими. Криві відновлення других відповідей у цих умовах зміщувались у бік коротших міжстимульних інтервалів. Вплив ГГОБ зумовлював помітне збільшення силових відповідей тестованих м'язів. Такі зміни спостерігалися білатерального, причому відносна інтенсивність відповідних зміщень на боці компресії СН і протилежному боці була близькою. Обговорюються можливі механізми впливу ГГОБ на стан нервово-м'язового апарату кінцівки при компресійному ушкодженні великого нервового стовбура. Яке призводить до розвитку траматичної нейропатії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. M. S. Okun, L. A. Boothby, R. B. Bartfield, and P. L. Doe-ring, "GHB: An important pharmacologic and clinical update," *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **4**, No. 2, 167-175 (2001).
2. V. Crunelli, Z. Emri, and N. Leresche, "Unravelling the brain targets of  $\gamma$ -hydroxybutyric acid," *Current Opin. Pharmacol.*, **6**, No. 1, 44-52 (2006).
3. В. П. Бархатова, И. А. Завалишин, "Нейротрансмиттерная организация двигательных систем головного и спинного мозга в норме и патологии", *Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*, **1**, № 8, 5-13 (2004).
4. В. В. Закусов, *Оксибутират натрия. Нейрофармакологическое и клиническое исследование*, Медицина, Москва (1968).
5. J. C. Rekling, G. D. Funk, D. A. Bayliss, et al., "Synaptic control of motoneuronal excitability," *Physiol. Rev.*, **80**, No. 2, 767-852 (2000).
6. I. Brattacharya and M. K. Boje, "GHB carrier-mediated transport across blood-brain barrier," *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **311**, No. 1, 92-98 (2004).
7. O. C. Snead, "Evidence for a G protein-coupled gamma-hydroxybutyric acid receptor," *J. Neurochem.*, **75**, No. 5, 1986-1996 (2000).
8. Л.М. Смирнова, "Трансплантация тканей и органопротективное обезболивание", *Травма*, **9**, № 1, 78-82 (2008).
9. A. Represa and Y. Ben-Ari, "Trophic actions of GABA on neuronal development," *Trends Neurosci.*, **28**, No. 6, 278-283 (2005).
10. Р. У. Островская, Н. Н. Клейменова, В. А. Арефоров, "Влияние натрия оксибутирата при продолжительном введении на физическую работоспособность и состояние мышечной ткани у крыс", *Фармакология и токсикология*, **44**, № 5, 534-538 (1981).
11. M. Mamelak, "Neurodegeneration, sleep and cerebral energy metabolism: a testable hypothesis," *J. Geriatr. Psychiat. Neurol.*, **10**, No. 1, 29-32 (1997).
12. Н. И. Нечипуренко, "Современные представления о патогенезе травматических поражений периферических нервов", *Мед. новости*, № 5, 9-16 (1997).
13. Р. Р. Исламов, *Посттравматическая пластичность мотонейронов*, Автореф. дис. ... д-ра мед. наук, Казань (2004).
14. А.А. Царев, А.В. Кривошапов, "Макро-микроскопическая характеристика скелетной мускулатуры задней конечности крыс в норме и при травме ее нервов", *Морфология*, **2**, № 2, 66-70 (2008).
15. M. D. Vickers, "Gammahydroxybutyric acid," *Int. Anesthesiol. Clin.*, **7**, No. 1, 75-89 (1969).
16. А. Г. Родинський, И. Я. Сердюченко, Т. В. Демченко, "Влияние системного введения ГГОБ на восстановление функций дистальных мышц задней конечности крыс после передавливания седалищного нерва", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **43**, № 2, 134-146 (2011).
17. И. П. Западнюк, А. Е. Захария, *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте*, Вища шк., Киев (1983).
18. А. с. № 5051105/14/022780 Украина, *Устройство для измерения силы сокращения мышц*, И. Я. Сердюченко, Е. А. Макий, М. Б. Щербинина, опубл. 29.02.92, Бюл. №14.
19. А. Н. Успенский, Л. И. Данилова, Л. П. Куокканен, "Ха-

- рактеристика длительного зубчатого тетануса скелетной мышцы крысы”, *Физиол. журн. СССР*, **75**, № 4, 478-485 (1989).
20. H. J. Finol, D. M. Lewis, and R. Owens, “The effects of denervation on contractile properties of rat skeletal muscle,” *J. Physiol.*, **319**, No. 1, 81-92 (1981).
  21. K. Gunderesen, “Early effects of denervation on isometric and isotonic contractile properties of rat skeletal muscles,” *Acta Physiol. Scand.*, **124**, No. 4, 549-555 (1985).
  22. T. J. Jentsch, V. Stein, F. Weinreich, and A. A. Zdebik, “Molecular structure and physiological function of chloride channels,” *Physiol. Rev.*, **82**, No. 2, 503-568 (2002).
  23. K. Steinmeyer, C. Ortland, and T. J. Jentsch, “Primary structure and functional expression of a developmentally regulated skeletal muscle chloride channel,” *Nature*, **354**, 301-304 (1991).
  24. S. H. Bryant and A. Morales-Aguilera, “Chloride conductance in normal and myotonic muscle fibres and the action of monocarboxylic aromatic acids,” *J. Physiol.*, **219**, No. 2, 367-383 (1971).
  25. K. Staley, R. Smith, J. Schaack, et al., “Alteration of GABA<sub>A</sub> receptor function following gene transfer of the CLC-2 chloride channel,” *Neuron*, **17**, No. 3, 543-551 (1996).
  26. D. Conte-Camerino, S. H. Bryant, M. D. Lograno, and M. Mambrini, “The influence of inactivity on membrane resting conductances of rat skeletal muscle fibres undergoing reinnervation,” *J. Exp. Biol.*, **115**, No. 1, 99-104 (1985).
  27. C. Bardouille, D. Vullhorst, and H. Jockusch, “Expression of chloride channel 1 mRNA in cultured myogenic cells: a marker of myotube maturation,” *FEBS Lett.*, **396**, Nos. 2/3, 177-180 (1996).
  28. B. Bettler, K. Kaupmann, J. Mosbacher, and M. Gassmann, “Molecular structure and physiological functions of GABA<sub>B</sub> receptors,” *Physiol. Rev.*, **84**, No. 3, 835-867 (2004).
  29. K. I. Bender and G. A. Seliverstov, “Effect of sodium oxybutyrate on the excitable membranes of a frog neuromuscular preparation,” *Pharmacol. Toxicol.*, **45**, No. 4, 30-34 (1982).
  30. C. Leoty and J. Noireand, “Membrane Ca<sup>2+</sup> interactions and contraction in denervated rat soleus,” *Pfugers Arch.*, **402**, No. 2, 152-159 (1987).
  31. Р. Г. Людковская, “Функциональные и физико-химические особенности различных типов мышечных волокон”, в кн.: *Молекулярная и клеточная биофизика*, Наука, Москва (1977), с. 217-226.
  32. А. М. Матеша, “Сравнительная характеристика действия тиопентала и оксибутирата натрия на нервную систему”, *Журн. здравоохранения Белоруссии*, **1**, № 5, 54-57 (1982).
  33. Q. Wang and M. E. Morris, “The role of monocarboxylate transporter 2 and 4 in the transport of  $\gamma$ -hydroxybutyric acid in mammalian cells,” *Drug Metab. Dispos.*, **35**, No. 8, 1393-1399 (2007).
  34. Г. В. Максимов, В. В. Ревин, М. А. Юданов, “Состав липидов соматических нервов крысы при действии повреждающих факторов”, *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **142**, № 8, 155-158 (2006).
  35. L. Schulte, D. Peters, and J. Taylor, “Sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> pump expression in denervated skeletal muscle”, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **267**, No. 2, 617-622 (1994).
  36. R. W. Jackman and S. C. Kandarian, “The molecular basis of skeletal muscle atrophy (Review),” *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **287**, No. 4, 834-843 (2004).
  37. M. Manore, R. Meeusen, and B. Roelands, “A-Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance,” *Br. J. Sports Med.*, **45**, No. 1, 73-74 (2011).
  38. Д. Мещлер, “Пути окисления, связанные с циклом трикарбоновых кислот:  $\gamma$ -Аминобутиратный шунт”, в кн.: *Биохимия*, Т. 2, Мир, Москва (1980), с. 327-328.