Сведения об авторах:

Сирак Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии;
тел.: 88652350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Кочкарова Зухра Магомедовна, аспирант кафедры гистологии; тел.: 88652352628; e-mail: azrch_1991@rambler.ru

Андреев Антон Александрович, аспирант кафедры стоматологии; тел.: 88652350551; e-mail: kafedra@mail.ru

Баландина Анжела Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры стоматологии детского возраста;
тел.: 89054148886; e-mail: anz-balandina@yandex.ru

Щетинин Евгений Вячеславович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии;
тел.: 88652352524; e-mail: ev.cliph@rambler.ru; <http://orcid.org/0000-0001-6193-8746>

© Коллектив авторов, 2019

УДК 612.746

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14026>

ISSN – 2073-8137

СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ КРЫС ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА

М. В. Стогов, Н. В. Кубрак, Е. А. Киреева

Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия»
им. акад. Г. А. Илизарова, Курган, Россия

STRUCTURAL AND METABOLIC CHANGES IN RAT SKELETAL MUSCLE AFTER SPINAL CORD INJURY

Stogov M. V., Kubrak N. V., Kireeva E. A.

Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics,
Kurgan, Russia

Исследование выполнено на 72 самцах крыс линии Вистар. В опытной группе (n=24) после ламинэктомии осуществляли моделирование травмы спинного мозга. Животным контрольной группы (n=24) после ламинэктомии ушивали операционную рану. Интактным животным (n=24) оперативные вмешательства не проводились. Изучена активность креатинфосфокиназы, концентрация лактата и содержание сократительных белков в передней большеберцовой и камбаловидной мышцах. После повреждения спинного мозга отмечалось снижение уровня сократительных белков в обеих скелетных мышцах крыс опытной группы. В передней большеберцовой мышце достоверное снижение уровня сократительных белков отмечалось уже через 5 суток после повреждения. В камбаловидной мышце животных опытной группы значительно снижалась активность креатинфосфокиназы и повышалась концентрация лактата. Достоверное увеличение уровня лактата в передней большеберцовой мышце отмечалось через 180 суток после травмы.

Ключевые слова: повреждение спинного мозга, скелетные мышцы, сократительные белки, энергетический обмен

The study was performed on 72 male Wistar rats. In the experimental group (n=24), lumbar spine modeling was performed after laminectomy. The animals of the control group (n=24) after laminectomy were sutured with an operating wound. Intact animals (n=24) did not undergo surgery. The activity of creatine phosphokinase, the concentration of lactate and the level of contractile proteins in the anterior tibial and soleus muscles were studied. It was found that after the spinal cord injury, the level of contractile proteins in both skeletal muscles of rats in the experimental group was reduced. In the anterior tibial muscle, a significant decrease in the level of contractile proteins was noted 5 days after injury. In the soleus muscle of the experimental group, the activity of creatine phosphokinase decreased significantly and the concentration of lactate increased. A significant increase in the level of lactate in the anterior tibial muscle was noted 180 days after the injury.

Keywords: spinal cord injury, skeletal muscles, contractile proteins, energy metabolism

Для цитирования: Стогов М. В., Кубрак Н. В., Киреева Е. А. СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ КРЫС ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(1.2):247-250. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14026>

For citation: Stogov M. V., Kubrak N. V., Kireeva E. A. STRUCTURAL AND METABOLIC CHANGES IN RAT SKELETAL MUSCLE AFTER SPINAL CORD INJURY. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(1.2):247-250. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14026> (In Russ.).

КМ – камбаловидная мышца
КФК – креатинфосфокиназа
ПБМ – передняя большеберцовая мышца

ПСМ – повреждения спинного мозга
СБ – сократительные белки

Травматическое повреждение спинного мозга приводит к развитию большого числа вторичных осложнений, среди которых значительное место занимают изменения в скелетных мышцах [1, 2]. Эти изменения выражаются в развитии целого комплекса патологических нарушений: потеря мышечной массы [3], прогрессирующее развитие нарушений нейромышечного взаимодействия [4, 5], гетеротопическая оссификация [6].

Потеря массы скелетных мышц после повреждения спинного мозга (ПСМ) происходит в основном за счет снижения площади их поперечного сечения с увеличением доли жировой ткани в них [7, 8]. После повреждения спинного мозга в мышцах конечностей также снижается доля мышечных волокон I типа (медленные) с ростом доли мышечных волокон II типа (быстрые) [9, 10, 11].

Имеющиеся исследования тем не менее не дают четкого понимания нескольких деталей: 1) после повреждения спинного мозга происходит абсолютная или относительная потеря сократительных белков (имеется лишь одна работа, в которой изучен качественный состав некоторых белков в мышцах после повреждения спинного мозга [12]); 2) как во времени развивается перестройка типа мышечных волокон после ПСМ; 3) присутствует ли асимметрия атрофии мышц левой и правой конечностей после ПСМ.

Цель – изучить некоторые биохимические изменения в скелетных мышцах разного типа у крыс после повреждения спинного мозга.

Материал и методы. Работа выполнена на 72 самцах крыс линии Вистар в возрасте 8–10 месяцев, массой тела от 270 до 320 г. Животных содержали в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и пище.

Животные были разделены на 3 группы: опытную (n=24), контрольную (n=24) и интактную (n=24). Крысам опытной и контрольной групп под общим обезболиванием (Ксилазина гидрохлорид 2 % – 1–2 мг/кг, Золетил 100 – 10–15 мг/кг) выполняли ламинэктомию на уровне Th_{IX}. Затем животным контрольной группы ушивали операционную рану, а крысам опытной группы осуществляли моделирование травмы спинного мозга средней степени тяжести. Для этого позвончик жестко фиксировали за остистые отростки Th_{VIII} и Th_{IX} позвонков и проводили контузию спинного мозга, используя устройство со свободно падающим цилиндрическим грузом диаметром 1,8 мм массой 10 г с высоты 25 мм. Эффективность произведенной контузии определяли визуально по рефлекторному вытягиванию тазовых конечностей и кровоизлиянию под твердую мозговую оболочку. Операционную рану ушивали послойно наглухо. Крысам интактной группы оперативные вмешательства не проводились.

В первые сутки осуществляли дополнительный обогрев животных. Для профилактики инфекционных осложнений проводили антибиотикотерапию. Всем животным с задержкой мочи два раза в сутки осуществляли мануальное опорожнение мочевого пузыря.

Сроки эксперимента составляли 5, 15, 90 и 180 суток после моделирования травмы.

Исследовали переднюю большеберцовую (ПБМ) и камбаловидную мышцы (КМ) обеих конечностей, как мышцы с преобладающими преимущественно гликолитическими (быстрыми) и окислительными (медленными) мышечными волокнами соответственно. После эвтаназии скелетные мышцы препарировали, очищали от соединительной и жировой тканей, отмывали от эритроцитов. После измельчения растирали в 0,03М растворе KCl при 5 °С до получения однородного гомогената. После 15 минут экстрагирования гомогенат центрифугировали 15 мин при 14000 g на ультрацентрифуге «Beckman&Coulter» (США). В надосадке определяли активность креатинфосфокиназы (КФК), концентрации лактата и общего белка (содержание белка определяли по методу Лоури). Осадок после первого центрифугирования растворяли в 0,6 М KCl и центрифугировали 15 мин при 6000 g. В полученном надосадке, представляющем собой смесь сократительных белков (СБ), определяли содержание белка по Лоури. Концентрацию лактата и активность КФК в супернатанте определяли наборами реагентов Vital Diagnostic (СПб.) на биохимическом фотометре Stat Fax 1904+ (США). Активность КФК рассчитывали на содержание белка, лактата и сократительных белков на массу очищенной мышечной ткани.

Достоверность межгрупповых различий изученных показателей на сроках эксперимента определяли с помощью непараметрического критерия Крускала – Уоллиса с последующим множественным сравнением по критерию Данна. Данные на рисунках представлены в виде средней арифметической и стандартного отклонения.

Результаты и обсуждение. Суммарный уровень сократительных белков в ПБМ обеих конечностей у крыс после ПСМ был достоверно снижен относительно интактных и контрольных животных на всех сроках наблюдения (рис. 1). В КМ обеих конечностей значимое снижение СБ относительно интактных и контрольных животных отмечено на 90-е и 180-е сутки эксперимента.

Рис. 1. Содержание сократительных белков (мг %) в скелетных мышцах конечностей крыс на сроках эксперимента.

Примечание: 5, 15, 90, 180 – сутки после моделирования повреждения спинного мозга.

* – достоверные межгрупповые отличия при уровне значимости $p < 0,05$. И, О, К – интактная, опытная и контрольная группы соответственно

Активность КФК в ПБМ обеих конечностей у крыс опытной группы была достоверно снижена относительно интактных и контрольных животных на 5-е сутки и достоверно повышена на 90-е сутки после травмы (рис. 2). В КМ обеих конечностей значимое снижение активности КФК относительно интактных и контрольных животных отмечено на 15, 90 и 180-е сутки эксперимента.

Концентрация лактата в ПБМ обеих конечностей у крыс опытной группы была достоверно повышена относительно интактных и контрольных животных на 180-е сутки после травмы (рис. 3). В КМ обеих конечностей высокий уровень лактата относительно интактных и контрольных животных отмечен на всех сроках наблюдения, за исключением КМ левой конечности, в которой уровень лактата на 15-е сутки эксперимента достоверно от групп сравнения не отличался.

Полученные данные показывают, что после повреждения спинного мозга отмечается снижение абсолютного количества СБ в скелетных мышцах обоего типа. Причем в ПБМ эти процессы развиваются уже через 5 суток после повреждения. Вероятно, такое снижение уровня сократительных белков может быть связано с нарушениями нейротрофического контроля мышц в посттравматическом периоде. При этом энергообмен в окислительной КМ оказался более чувствителен к такому влиянию, что и выражалось значимым снижением активности КФК и ростом уровня лактата как в раннем, так и позднем периоде после повреждения спинного мозга. В свою очередь, высокое содержание лактата в ПБМ на 180-е сутки эксперимента также говорит о том, что активация анаэробного обмена после ПСМ развивалась и в быстрых мышцах. Эти изменения могут быть следствием того, что в скелетных мышцах обоего типа после ПСМ увеличивалось число быстрых мышечных волокон, что согласуется с представленными выше литературными данными.

Заключение. В течение 180 суток после повреждения спинного мозга в скелетных мышцах, иннервируемых отделами спинного мозга, лежащими ниже зоны травмы, развиваются нарушения в виде снижения уровня сократительных белков, увеличения интенсивности анаэробного обмена. Данные изменения происходят в мышцах как с преимущественно гликолитическим типом энергообмена, так и окислительным.

Информированное согласие: На проведение исследования получено разрешение Комитета по этике при ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. Г. А. Илизарова». Исследование проведено при соблюдении принципов гуманного обращения с лабораторными животными в со-

Рис. 2. Активность креатинфосфокиназы (мЕ/г белка) в скелетных мышцах конечностей крыс на сроках эксперимента.

Примечание: 5, 15, 90, 180 – сутки после моделирования повреждения спинного мозга.

* – достоверные межгрупповые отличия при уровне значимости $p < 0,05$. И, О, К – интактная, опытная и контрольная группы соответственно

Рис. 3. Концентрация лактата (мкмоль/г ткани) в скелетных мышцах конечностей крыс на сроках эксперимента.

Примечание: 5, 15, 90, 180 – сутки после моделирования повреждения спинного мозга.

* – достоверные межгрупповые отличия при уровне значимости $p < 0,05$. И, О, К – интактная, опытная и контрольная группы соответственно

ответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей.

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Li X. F., Dai L. Y. Acute central cord syndrome: injury mechanisms and stress features. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2010;35(19):E955-964. <https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181c94cb8>
- Lin C. Y., Androjna C., Rozic R., Nguyen B., Parsons B. [et al.]. Differential adaptations of the musculoskeletal system

after spinal cord contusion and transection in rats. *Journal of Neurotrauma*. 2018;35(15):1737-1744. <https://doi.org/10.1089/neu.2017.5444>

- Giangregorio L., McCartney N. J. Bone loss and muscle atrophy in spinal cord injury: epidemiology, fracture prediction, and rehabilitation strategies. *The Journal of Spinal Cord Medicine*. 2006;29(5):489-500.

4. Corleto J. A., Bravo-Hernández M., Kamizato K., Kakinohana O., Santucci C. [et al.]. Thoracic 9 spinal transection-induced model of muscle spasticity in the rat: a systematic electrophysiological and histopathological characterization. *PLoS One*. 2015;10(12):e0144642. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144642>
5. Takeoka A., Vollenweider I., Courtine G., Arber S. Muscle spindle feedback directs locomotor recovery and circuit reorganization after spinal cord injury. *Cell*. 2014;159(7):1626-1639. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.019>
6. Genêt F., Kulina I., Vaquette C., Torossian F., Millard S. [et al.]. Neurological heterotopic ossification following spinal cord injury is triggered by macrophage-mediated inflammation in muscle. *Journal of Pathology*. 2015;236(2):229-240. <https://doi.org/10.1002/path.4519>
7. Elder C. P., Apple D. F., Bickel C. S., Meyer R. A., Dudley G. A. Intramuscular fat and glucose tolerance after spinal cord injury – a cross-sectional study. *Spinal Cord*. 2004;42(12):711-716. <https://doi.org/10.1038/sj.sc.3101652>
8. O'Brien L. C., Chen Q., Savas J., Lesniewsky E. J., Gorgey A. S. Skeletal muscle mitochondrial mass is linked to lipid and metabolic profile in individuals with spinal cord injury. *European Journal of Applied Physiology*. 2017;117(11):2137-2147. <https://doi.org/10.1007/s00421-017-3687-9>
9. Burnham R., Martin T., Stein R., Bell G., MacLean I. [et al.]. Skeletal muscle fibre type transformation following spinal cord injury. *Spinal Cord*. 1997;35(2):86-91.
10. Harris R. L., Putman C. T., Rank M., Sanelli L., Bennett D. J. Spastic tail muscles recover from myofiber atrophy and myosin heavy chain transformations in chronic spinal rats. *Journal of Neurophysiology*. 2007;97(2):1040-1051. <https://doi.org/10.1152/jn.00622.2006>
11. Furlan J. C., Noonan V., Cadotte D. W., Fehlings M. G. Timing of Decompressive Surgery of Spinal Cord after Traumatic Spinal Cord Injury: An Evidence-Based Examination of Pre-Clinical and Clinical Studies. *Journal of Neurotrauma*. 2011; 28(8): 1371-1399. <https://doi.org/10.1089/neu.2009.1147>
12. Wei Z. J., Zhou X. H., Fan B. Y., Lin W., Ren Y. M. [et al.]. Proteomic and bioinformatic analyses of spinal cord injury-induced skeletal muscle atrophy in rats. *Molecular Medicine Report*. 2016;14(1):165-174. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5272>

Сведения об авторах:

Стогов Максим Валерьевич, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии; тел.: 83522450538; e-mail: stogo_off@list.ru;

Кубрак Надежда Владимировна, младший научный сотрудник экспериментальной лаборатории; тел.: 83522430883; e-mail: kubrak2@mail.ru;

Киреева Елена Анатольевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии; тел.: 83522450538; e-mail: ea_tkachuk@mail.ru

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616- 006.81-06-616.5-577.175.6

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14027>

ISSN – 2073-8137

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ НА РЕЦЕПТОРНЫЙ СТАТУС КОЖИ И РАСТУЩЕЙ В НЕЙ ОПУХОЛИ У САМОК МЫШЕЙ С ПЕРЕВИВНОЙ МЕЛАНОМОЙ B16/F10

Е. М. Франциянц, В. А. Бандовкина, И. В. Каплиева,
Ю. А. Погорелова, Л. К. Трепитаки, И. М. Котиева

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт,
Ростов-на-Дону, Россия

EFFECT OF CHRONIC NEUROGENIC PAIN ON RECEPTOR STATUS OF THE SKIN AND GROWING SKIN TUMOR IN FEMALE MICE WITH TRANSPLANTABLE B16/F10 MELANOMA

Frantsiyants E. M., Bandovkina V. A., Kaplieva I. V.,
Pogorelova Yu. A., Trepitaki L. K., Kotieva I. M.

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Изучены изменения рецепторного статуса кожи и растущей в ней опухоли под влиянием хронической нейрогенной боли у самок мышей линии C57BL/6 (n=64) с перевивной меланомой B16/F10. В образцах кожи, опухоли и перифокальной зоны ИФА-методами определяли уровень рецепторов стероидных гормонов.

Хроническая боль оказывала влияние на рецепторный статус кожи, вызывая повышение содержания рецепторов эстрогенов и снижение уровня рецепторов андрогенов, что способствовало более раннему выходу опухоли, активному метастазированию и меньшему сроку жизни мышей в отличие от группы сравнения. Выход опухоли у всех животных вызывал односторонние изменения в коже рецепторов эстрогенов и разнонаправленные – рецепторов андрогенов и прогестерона. Образцы меланомы характеризовались повышенным содержанием всех исследован-