

Р. Дахман, В. Валенчич, Н. Кнез, И. Ерзен Оценка способности выполнить неинвазивную оценку сократительных свойств мышцы на основе механических ответов брюшка мышцы

Dahmane, R. Evaluation of the ability to make non-invasive estimation of muscle contractile properties on the basis of the muscle belly response / R.Dahmane, V.Valenčič, N.Knez, I.Eržen //Medical & Biological Engineering & Computing, 2001.– V.39.– P.51-55.

ABSTRACT. Изучались гистохимические и биомеханические свойства скелетных мышц в двух группах по 15 мужчин в возрасте между 17 и 40 годами. Для изучения были выбраны семь мышц: biceps brachii, triceps brachii (TB), flexor digitorum superficialis, extensor digitorum, biceps femoris, tibialis anterior и gastrocnemius caput mediale (GCM). Цель предварительного исследования состояла в том, чтобы оценить альтернативный метод, основанный на тензиомиографии (ТМГ) – неинвазивной технике измерений. Процент мышечных волокон (МВ) I типа, полученных гистохимическим методом, в 2,2 раза выше для самой медленной из исследуемых мышц (GCM), чем для самой быстрой (TB). Длительность механического ответа брюшка мышцы, измеренного посредством ТМГ, в 1,9 раза выше для GCM чем для TB. Статистический анализ данных, полученных посредством ТМГ и посредством биопсии (гистохимический метод) показывает существенную корреляцию между длительностью механического ответа мышцы, измеренного посредством ТМГ и процентом МВ I типа (коэффициент корреляции равен 0,93). Результаты исследования позволяют использовать ТМГ в качестве основного метода оценки процентного содержания МВ I типа.

Ключевые слова: скелетные мышцы человека, типы мышечных волокон, гистохимия, тензиомиография, биомеханика.

Введение

ИЗМЕРЕНИЯ ответа мышечного брюшка на электрические стимулы показали существование различий между мышцами. Наши предварительные исследования (V.Valenčič, N.Knez, 1997) позволили заключить, что ответ мышечного брюшка на смещение сенсора представляет значимую информацию о характеристиках мышечного сокращения.

V.Valenčič, N.Knez, (1997) нашли, что скоростные параметры *m.vastus lateralis* были в четыре раза выше по сравнению с *m.soleus*. *M.vastus lateralis* и *m. brachioradialis* известны как быстрые мышцы. С другой стороны, *m.soleus* является медленной мышцей (Polgar et al., 1973; Edgerton et al., 1974; Lexell et al., 1984). Значения анализируемых параметров *m.gastrocnemius* и *m. tibialis anterior* лежат между параметрами быстрых и медленных мышц. Различия ответов мышц зависят от их структуры. Эта статья свидетельствует о том, что предлагаемый метод (ТМГ) предоставляет значимую информацию о мышечной структуре.

2. Материалы, методы и процедуры

Две группы субъектов измерялись посредством двух методов. С целью статистического анализа обе группы были гомогенны по возрасту, полу и состоянию здоровья (не имелось доказательств болезней нейромышечной системы).

2.1. Мышечная биопсия

Образцы мышечной ткани брали у 15 субъектов мужского пола в возрасте 15-40 лет. Все они погибли. Посмертное исследование не показало существенных изменений в тканях. У субъектов не было заболеваний нервно-мышечной системы.

Через 5-24 часа после смерти были получены образцы мышечной ткани из правой конечности из следующих мышц: *biceps brachii* (BB), *triceps brachii* (TB), *flexor digitorum superficialis* (FDS),

extensor digitorum (ED), biceps femoris (BF), tibialis anterior (TA) и gastrocnemius caput mediale (GCM). Образцы мышечной ткани, объемом приблизительно в 1 см³ были заморожены в жидком азоте и охлаждены до температуры – 196 град С. Затем они были нарезаны на тонкие слои, толщиной в 10 мкм, после чего определялась миофибриллярная активность АТФазы посредством кальциевого гислологического метода при pH 9,4 (Padikula and Herman, 1955), а затем после преинкубации при pH 4,6 и pH 4,3 (Guth and Samaha, 1970).

С каждого образца ткани мышцы выполнялись фотоснимки посредством фотомикроскопа Opton с постоянным увеличением в 116 раз для того, чтобы в область съемки попали как минимум два пучка MB, содержащих как минимум 100 MB. Контуры MB внутри выбранных пучков были оцифрованы посредством графического планшета Cherry, соединенного с ПК. Процентное соотношение MB различных типов определялось компьютерным методом по Pernuš et al. (1986).

2.2. Регистрация ТМГ

Тензиомиография – метод для изучения контрактильных свойств мышц. Он основан на характеристиках мышечного сокращения: когда мышца сокращается, ее брюшко увеличивается. Посредством датчика перемещения измеряется радиальное увеличение мышечного брюшка (рис. 1).

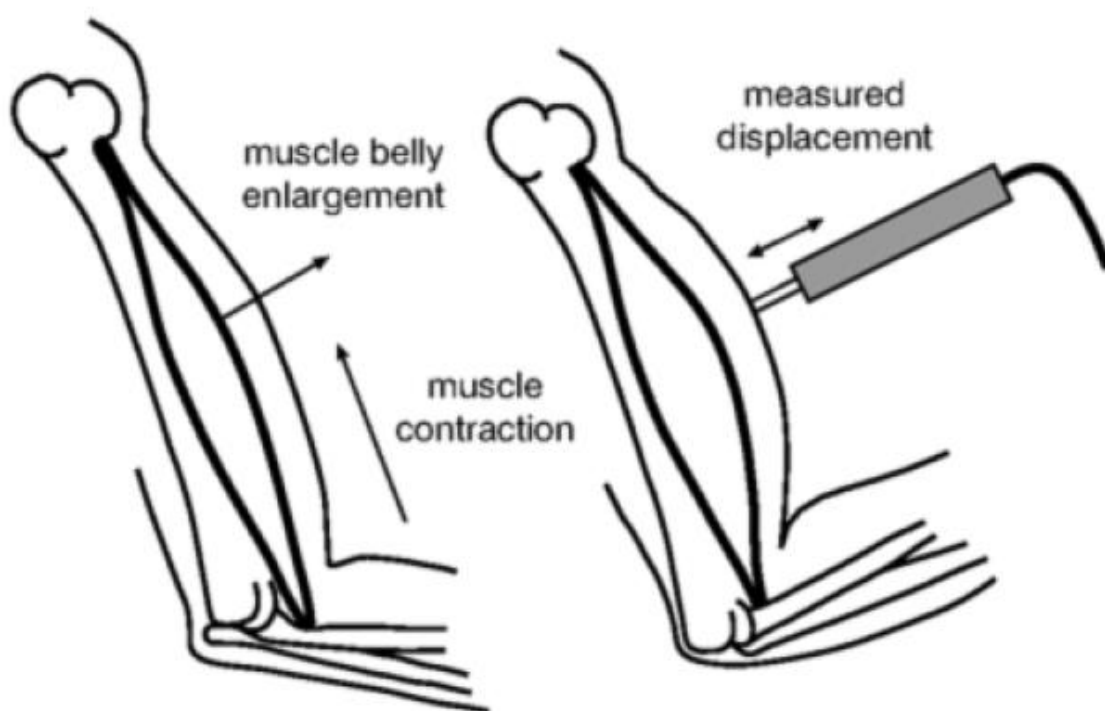


Рис.1. Принцип метода тензиомиографии. Когда мышца сокращается, ее брюшко увеличивается. Радиальное увеличение измеряется датчиком смещения.

Во время измерения датчик смещения прижат к коже. Во время измерения использовался индуктивный датчик, содержащий пружину жесткостью $0,17 \text{ Н мм}^{-1}$, которая создавала начальное давление приблизительно $1,5 \times 10^{-2} \text{ Н мм}^{-2}$ в области площадью 113 мм^2 . Были сопоставлены ответы семи различных мышц правой части тела 15 здоровых мужчин в возрасте 17 – 40 лет. Исследуемый субъект сидел в измерительном кресле или лежал на измерительной кровати в зависимости от изучаемой мышцы. Исследуемая рука или нога прикреплялась к раме для достижения изометрического положения во время измерения. Исследуемая точка для каждой мышцы определялась по анатомическим ориентирам на базе пособия по электромиографии (DeLagi et al., 1975), табл.1.

Таблица 1.

Анатомические ориентиры для исследования семи скелетных мышц
(DeLagi et al., 1975).

Название мышцы	Анатомические ориентиры
Biceps brachii (BB)	Посередине линии, соединяющей латеральную головку ключицы и головку лучевой кости
Triceps brachii (TB)	На поверхности латеральной головки ТВ выше сухожилия ТВ
Flexor digitorum superficialis (FDS)	Соединение верхней и средней трети предплечья (10 см дистальнее от медиального надмыщелка плечевой кости)
Extensor digitorum (ED)	Соединение верхней и средней трети предплечья (10 см дистальнее от латерального надмыщелка плечевой кости)
Biceps femoris (BF)	Посередине линии, соединяющей головку малоберцовой кости и седалищный бугор
Tibialis anterior (TA)	На толщине четырех пальцев вниз от бугристости большеберцовой кости и один палец латерально от tibial crest (возможно, это место прикрепления крестообразных связок на большеберцовой кости).
Gastrocnemius caput mediale (GCM)	На ширину ладони вниз от popliteal crest на медиальной головке икроножной мышцы

Мышца стимулировалась одним стимулом (одиночное сокращение) при использовании двух электродов, расположенных симметрично относительно датчика. Анод располагался более дистально, в то время как катод располагался проксимально на 20-50 мм от исследуемой точки. При биполярной электрической стимуляции использовались импульсы длительностью 1 мс и напряжением 10-40 В

выше основного уровня. В качестве стимулятора применялся стимулятор GRASS 8800. Ответ мышцы анализировался на ПК.

ТМГ сигналы анализировались с целью определения следующих параметров: время задержки, время сокращения, sustain time и время расслабления. Самым главным параметром было время сокращения. Оно определялось от 10% до 90% от максимального значения кривой ответа мышцы (V.Valenčič, N.Knez, 1997).

2.3. Статистический анализ

Рассчитывался коэффициент корреляции между % содержанием MB I типа и временем сокращения.

3. Результаты и обсуждение

ТМГ-метод является неинвазивным методом, оценивающим ответ всей мышцы и изменение ее функциональных характеристик в отличие от инвазивного метода оценки характеристик мышцы, который описывается многими авторами (Buchtal and Schmalbruch, 1970; Sica and MacComas, 1971; Stein et al., 1972; Parker et al., 1984).

Многие из этих методов вовлекают в ответ только одну ДЕ, что не репрезентативно для всей мышцы. Другие методы являются неинвазивными, конечным результатом которых является оценка мышечного усилия. Но эти методы также имеют ряд недостатков. Обычно они измеряют момент силы относительно сустава, на который влияют характеристики сустава и другие мышцы, создающие момент относительно этого сустава. Если исследовательский метод изучения силы мышцы способен исключить влияние других мышц или самого сустава, то это скорее комплексный метод, и он может быть использован для ограниченного числа мышц (Gidikov et al., 1976).

Метод ТМГ не измеряет напрямую силу мышцы, но измеряет смещение мышечного брюшка. Однако смещение брюшка мышцы коррелирует с силой мышцы. Этот метод включает измерения ответа

одной мышцы и тот же самый комплект оборудования подходит для измерения ответов всех поверхностных скелетных мышц.

Большинство ответов мышц брюшков измеренных посредством оценки датчиками радиального смещения несколько более насыщены, особенно когда сравниваются с измеряемой силой.

По нашему мнению, эта специфическая форма является характеристикой ответа брюшка мышцы по нескольким возможным причинам: влияния мышечной фасции (возможно во вторую очередь) и пластической деформации мышцы датчиком.

Knaufitz et al. (1990) показали, что порядок рекрутирования при поверхностной электрической стимуляции не такой, как при произвольном сокращении, при котором медленные мышечные волокна рекрутируются первыми, а такой, как при стимуляции нерва, при которой быстрые мышечные волокна рекрутируются первыми. Следовательно, мы не можем определить % соотношение быстрых или медленных мышечных волокон точно (в настоящем исследовании супрамаксимальная стимуляция не применялась).

Разгибатели и сгибатели кисти расположены близко к extensor и flexor digitorum superficialis, но расположены далеко от точки измерения по сравнению с остальными мышцами.

ТМГ-метод предполагает отдельные измерения ответов мышцы на электрическую стимуляцию. При поверхностной электрической стимуляции, соседние мышцы также активируются, и все же ответ различных мышц можно легко отличить посредством маленького датчика смещения. При высокоамплитудной стимуляции глубоколежащие мышцы также могут быть активированы. Мы обычно используем низкоамплитудную биполярную стимуляцию, при которой активируются мышечные волокна поверхностно расположенных мышц.

В литературе (Buchtal and Schmalbruch, 1970; Sica and MacComas, 1971; Stein et al, 1972) используются гистохимические методы, базирующиеся на демонстрации активности метаболических ферментов, которая коррелирует с утомляемостью мышцы. Наш гистохимический метод базируется на демонстрации активности АТФазы, которая коррелирует со скоростью мышечного сокращения.

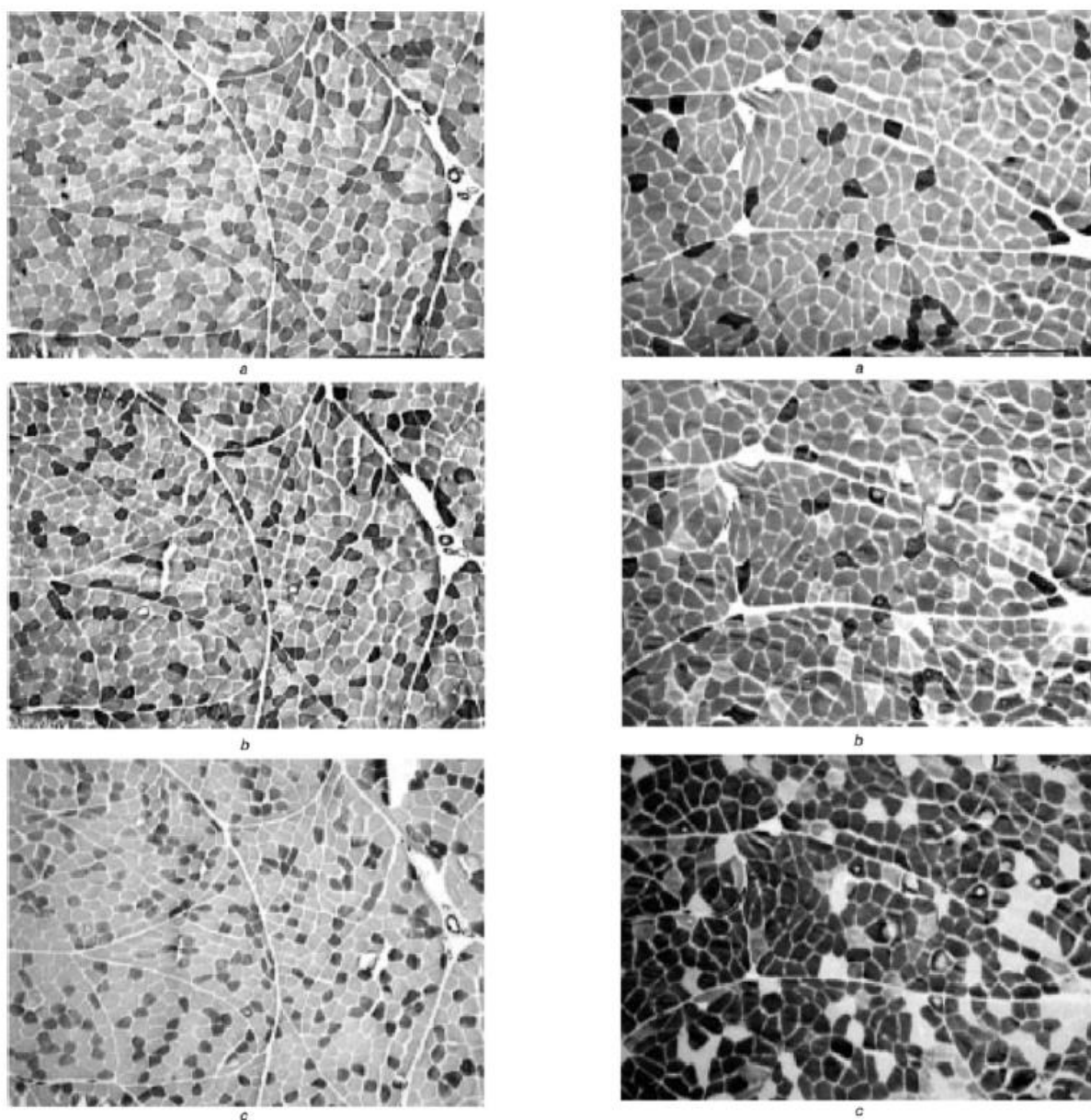


Рис.2. Гистохимический анализ различных типов мышечных волокон в ED (быстрая мышца верхней конечности). а) демонстрация активности АТФазы, применяя кальцевый метод с рН 9,4; б) демонстрация активности АТФазы после преинкубации рН 4,6; в) демонстрация активности АТФазы после преинкубации рН 4,6; г) демонстрация активности АТФазы после преинкубации рН 4,6; д) демонстрация активности АТФазы после преинкубации рН 4,6; е) демонстрация активности АТФазы после преинкубации рН 4,6; з) демонстрация активности АТФазы после преинкубации рН 4,6.

демонстрация активности АТФазы после преинкубации при рН 4,3.
(слева)

Рис.3. Гистохимический анализ различных типов мышечных волокон в GCM (медленная мышца нижней конечности). а) демонстрация активности АТФазы, применяя кальцевый метод с рН 9,4; б) демонстрация активности АТФазы после преинкубации рН 4,6; с) демонстрация активности АТФазы после преинкубации при рН 4,3.
(справа)

Таблица 2

Длительность механического ответа брюшка мышцы и % МВ I типа, измеренные у двух групп исследуемых (средние значения и стандартное отклонение).

Название мышцы	Время сокращения, мс	Процент МВ I типа
Biceps brachii (BB)	34±4	52±8
Triceps brachii (TB)	30±6	35±8
Flexor digitorum superficialis (FDS)	30±10	43±6
Extensor digitorum (ED)	29±5	51±6
Biceps femoris (BF)	36±9	43±10
Tibialis anterior (TA)	50±9	77±8
Gastrocnemius caput mediale (GCM)	55±11	78±7

Выделение ED и GCM мышц для демонстрации активности миофибриллярной АТФазы при рН 9,4 и после преинкубации при рН 4,6 и при рН 4,3 показывает хорошо известную мозаику распределения мышечных волокон (рис. 2 и рис. 3).

Таблица 2 показывает численные результаты обоих методов: гистохимического и ТМГ для семи исследуемых мышц. Процент МВ I типа, полученных гистохимическими методами в 2,24 раза больше в

самой медленной из исследуемых мышц (GCM) по сравнению с самой быстрой (TB). Время сокращения, полученное посредством ТМГ метода в 1,86 раз больше для GCM по сравнению с TB.

Коэффициент корреляции Пирсона между процентным содержанием MB I типа и биомеханическими параметрами, полученными по ТМГ равен 0,93 при $p \leq 0,05$. Из этого следует, что между процентным содержанием MB I типа и временем сокращения существует сильная корреляция (рис.4 и рис.5).

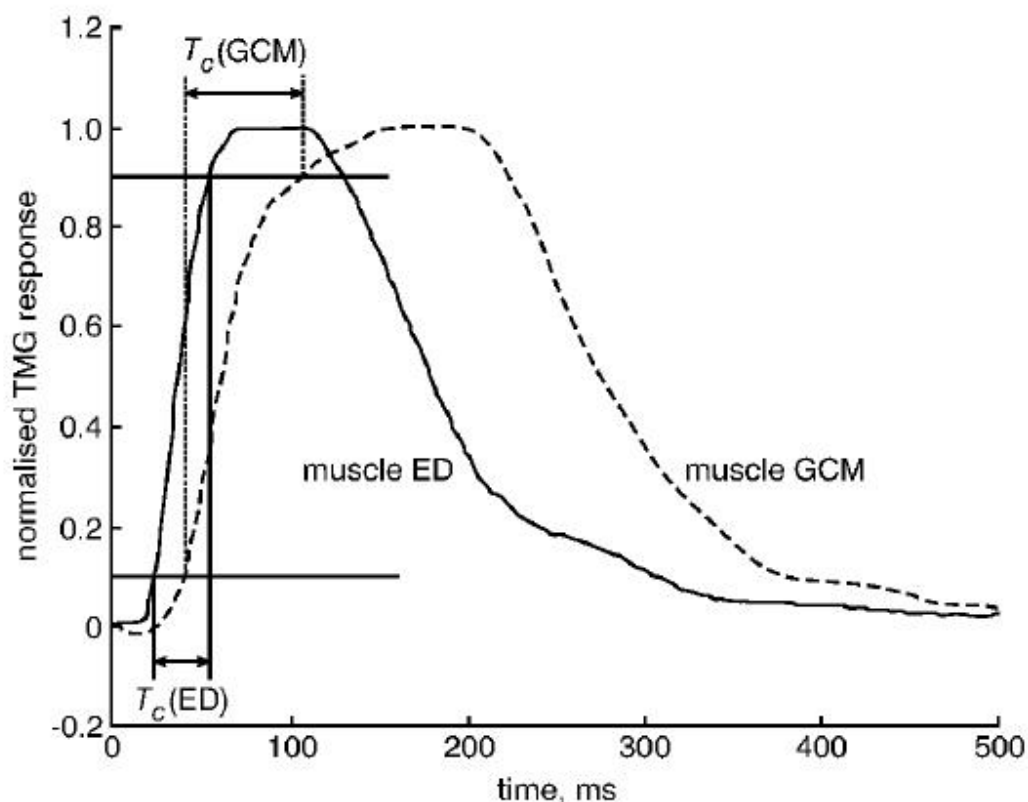


Рис.4. Время сокращения, полученное по механическому ответу брюшка мышцы при одиночной стимуляции для ED (быстрая мышца) и GCM (медленная мышца), измеренное по ТМГ. Время сокращения больше в медленной мышце по сравнению с быстрой.

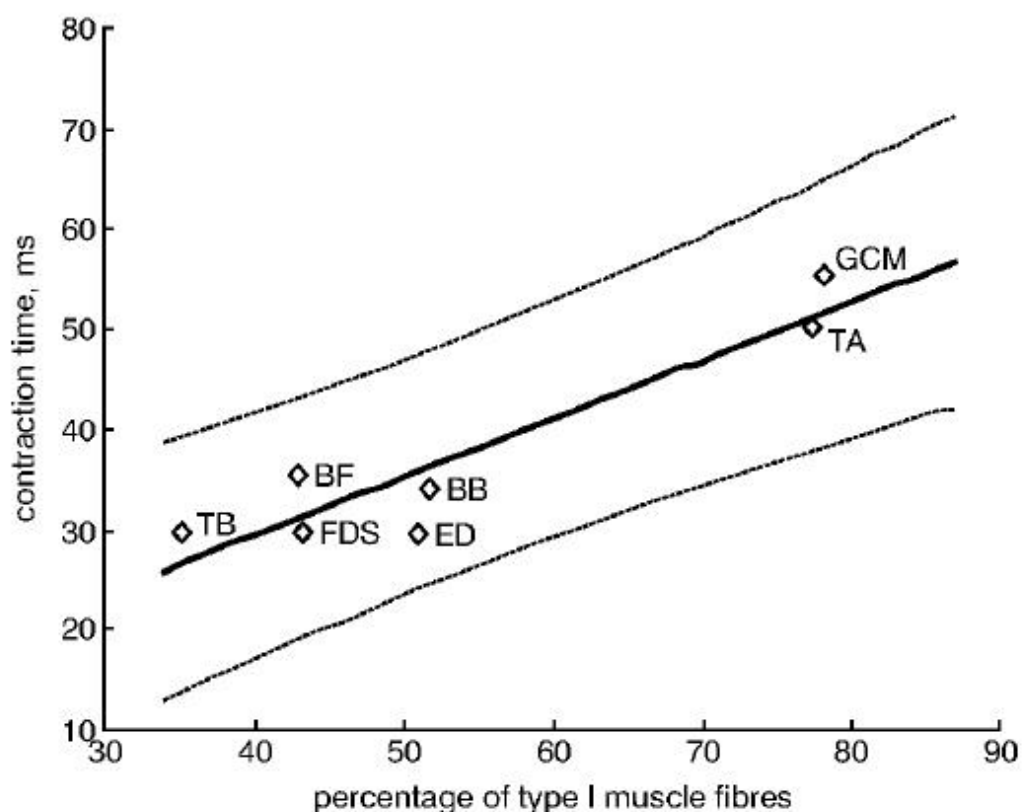


Рис.5. Корреляционное поле и доверительный интервал для значений процентного содержания МВ I типа и биомеханическими параметрами, полученными по ТМГ для семи исследуемых мышц.

Информация о структуре мышцы очень важна при изучении заболеваний или других изменений в мышцах. Для спортсменов она нужна для управления тренировочным процессом. В то же время большинство методов изучения мышцы инвазивные.

В этой статье представлен неинвазивный метод – тензиомиография. Сопоставлены результаты с гистохимическим инвазивным методом анализа скелетных мышц. Статистический анализ между процентным содержанием МВ I типа и скоростью сокращения мышцы дает высокую корреляцию. В настоящем исследовании использовался неинвазивный метод ТМГ для получения достоверной информации о мышечной структуре. Метод позволяет, используя одну и ту же технику, измерять механические характеристики все поверхностных мышц и получать результаты

немедленно после измерения. Авторы предлагают использовать неинвазивный метод как альтернативу инвазивному гистохимическому анализу.

References

1. BUCHTHAL, E, and SCHMALBRUCH, H. (1970): Contraction times and fibre types in intact human muscle, *Acta Physiol. Stand.*, 79, pp. 435-452
2. DELAGI, E. E., PEROTTO, A., IAZZETTI, J., and MORRISON, D. (1975): *Anatomic guide for the electromyographer: the limbs* (Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, USA)
3. EDSTRÖM, L., and KUGELBERG, B. (1968): Histochemical composition, distribution of fibres and fatigability of single motor units, *J Neurol. Neurosurg. Psvchiat.*, 31, pp. 424-433
4. EDGERTON, V H., SMITH, J. L., and SIMPSON, D. R. (1975): Muscle fibre type populations of human leg muscles, *Histochem. J.*, 7, pp. 259-266
5. GUTH, L., and SAMAHA, E J. (1970): Procedure for the histochemical demonstration of actomyosine ATPase (research note), *Exp. Neurol.*, 28, pp. 365-367
6. GYDIKOV, A., DIMITROV, G., KOSAROV, D., and DIMITROVA, N. (1976): Functional differentiation of motor units in human opponens pollicis muscle, *Exper. Neurol.*, 50, pp. 36-47
7. KNAFLITZ, M., MERLETTI, R., and DeLUCA, C. J. (1990): Inference of motor unit recruitment order in voluntary and electrically elicited contractions, *J. Appl. Physiol.*, 68, (4), pp. 1657-1667
8. LEXELL, J., HENRIKSSON-LARSEN, K., and SJOSTROM, M. (1983): Distribution of different fibre types in human muscles, *Acta Physiol. Scand.*, Part 2, 117, pp. 115-122
9. PADYKULA, H. A., and HERMAN, E. (1955): The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase, *J Histochem. Citochem.*, 3, pp. 170-183
10. PARKER, E A., KÖRNER, I., and KADEFORS, R. (1984): Estimation of muscle force from intramuscular total pressure, *Med. Biol. Eng. Comput.*, 22, pp. 453-457
11. PERNUŠ, E, ERŽEN, I., and BJELOGRLIC, Z. (1986): A computer-aided method for muscle fibre type quantification, *Acta Stereol*, 5, pp. 49-54
12. POLGAR, J., JOHNSON, M. A., WEIGHTMAN, D., and APPLETON, D. (1973): Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles, *J. Neurol. Sci.*, 19, pp. 307-318

13. SICA, R. E. R, and McCOMAS, A. J. (1971): Fast and slow twitch units in a human muscle, J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 34, pp. 113-120
14. STEIN, R. B., FRENCH, A. S., MANNARD, A., and YEMM, R. (1972): New methods for analysing motor function in man and animals ,Brain Res., 40, pp. 187-192
15. VALENČIČ, V, and KNEZ, N. (1997): Measuring of skeletal muscles dynamic properties, Artific. Org., 21, pp. 240-242

Биографии авторов

RAJA DANMANE закончила медицинский факультет г. Любляны в 1987 году. Она получила степень магистра по гистохимии и морфометрическому анализу скелетных мышц в 1995 году. Затем она присоединилась к исследовательской группе Института анатомии Медицинского факультета г. Любляны по проекту: структура и функции скелетных мышц в физиологическом, экспериментальном и патологическом состояниях

VOJKO VALENČIČ получил степень бакалавра в 1972, магистра в 1975 а доктора в 1980 на электротехническом факультете Университета города Любляны, Словения. Он - профессор базовых принципов электротехники и численных методов в электромагнетизме и биоэлектромагнетизме электротехнического факультета Университета Любляны. Он является ведущим исследователем основных принципов электротехники, математики и физики, с 1989. Его исследовательские интересы - числовой электромагнетизм с особым применением к биомедицинским проблемам. Его научные интересы связаны с концептуальным изучением естественных наук, научной визуализацией и биомеханикой скелетных мышц.

NATAŠA KNEZ окончила в 1993 году Электротехнический факультет Университета Любляны. Там же в 1997 году она получила степень магистра в настоящее время она работает в качестве исследователя на электротехническом факультете Университета Любляны в области биомеханики скелетных мышц.

IDA ERŽEN работает в качестве научного консультанта в институте анатомии медицинского факультета Университета Любляны в области мышечной пластичности и применения гистохимической, иммунологической и морфометрической техники.

Корреспонденция должна быть адресована Доктору RAJA DAHMANE:
e-mail: raja.dahmane@guest.arnes.si

Перевод А.В.Самсоновой июль 2012