

УДК 577.353, 534.6.08

УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДОПЛЕРОВСКИЙ ОТКЛИК ПРИ ИЗОМЕТРИЧЕСКИХ МЫШЕЧНЫХ СОКРАЩЕНИЯХ**А. А. Кулибаба, С.А. Гирнык, Д.А. Толстолужский, Е.А. Баранник, Курилко С.А.***Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина, 61108, г. Харьков, пр. Курчатова, 31
barannik@pht.univer.kharkov.ua*

Поступила в редакцию 11 мая 2009 г.

Принята 12 июня 2009 г.

При помощи ультразвукового доплеровского метода исследованы спектральные характеристики локальных изометрических сокращений скелетных мышечных тканей *in vivo*. Локальные перемещения в мышцах предплечья регистрировались у четырех полностью здоровых волонтеров при действии постоянных нагрузок различной величины, а также в состоянии полного расслабления мышц. Для всех волонтеров установлено, что основное отличие амплитудно-частотных характеристик изометрических мышечных колебаний при разных нагрузках заключается в величине амплитуды флуктуаций, в то время как спектральные характеристики остаются практически неизменными. Последнее объясняется тем, что основным фактором формирования спектров колебаний являются механохимические характеристики флуктуационных движений поперечных мостиков в областях перекрытия актиновых и миозиновых филаментов. В то же время наблюдается некоторое отличие спектральных характеристик для разных волонтеров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ультразвуковая доплеровская миография, саркомер, мышечные сокращения, доплеровский спектр, мониторинг.

THE ULTRASOUND DOPPLER RESPONSE AT ISOMETRIC MUSCULAR REDUCTIONS**A.A.Kulibaba, S.A.Girnyk, D.A.Tolstoluzhsky, E.A. Barannik, Kurylko S.O.***The Kharkiv National University named V.N.Karazin, 61108, Kharkiv, Kurchatov av., 31
barannik@pht.univer.kharkov.ua*

By means of ultrasound Doppler method research of spectral characteristics of local isometric reductions of skeletal muscular fabrics *in vivo* is carried out. Local moving were registered on muscles of the forearm of four completely healthy volunteers under action of constant loading of various size and also in a condition of full relaxation. For all volunteers it is established, that the basic difference of peak-frequency characteristics of isometric muscular fluctuations at various loadings consists in size of amplitude of fluctuations while spectral characteristics remain practically invariable. This is explained by that a major spectra formation factor of fluctuations is mechanochemical characteristics of fluctuation movements of cross-section bridges in overlapping areas actin and myosin filaments. At the same time some difference of spectral characteristics for different volunteers is observed.

KEYWORDS: ultrasound Doppler myography, sarcomere, muscular reductions, Doppler spectrum, monitoring.

УЛЬТРАЗВУКОВИЙ ДОПЛЕРІВСЬКИЙ ВІДГУК ПРИ ІЗОМЕТРИЧНИХ НАВАНТАЖЕННЯХ М'ЯЗІВ**А.О. Кулібаба, С.А. Гірник, Д.О. Толстолужський, Е.О. Баранник, Курилко С.О.***Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна, 61108, м. Харків, пр. Курчатова, 31
barannik@pht.univer.kharkov.ua*

За допомогою ультразвукового доплерівського методу проведено дослідження спектральних характеристик локальних ізометричних скорочень кісткових м'язових тканин *in vivo*. Реєструвалися локальні переміщення у м'язах передпліччя чотирьох повністю здорових волонтерів під дією постійних різноманітних навантажень, а також у стані повного розслаблення. Для всіх волонтерів встановлено, що основна відмінність амплітудно-частотних характеристик ізометричних м'язових коливань під дією різноманітних навантажень полягає у величині амплітуди флуктуацій, в той час як спектральні характеристики залишаються практично незмінними. Останнє пояснюється тим, що основним фактором формування спектрів коливань є перекриття актинових та міозинових філаментів. В той же час наблюдаються деякі відмінності спектральних характеристик для різних волонтерів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ультразвукова доплерівська міографія, саркомер, м'язові скорочення, доплерівський спектр, моніторинг.

Ультразвук, как практическое средство медицинской диагностики, завоевал к настоящему времени весьма прочное положение. По широте своего использования в качестве физического средства ультразвуковая диагностика [1,2] давно приблизилась к рентгеновским методам и в целом ряде приложений, например, при исследовании потоков крови, вибраций сердечных структур и стенок сосудов, остается вне конкуренции, поскольку позволяет определять амплитудно-частотные характеристики и получать количественную информацию о протекании разнообразных физиологических процессов. Следует отметить и возможность выполнения минимально инвазивных диагностических и лечебных вмешательств под ультразвуковым контролем. С этой точки зрения неувидителен возрастающий интерес к акустическому мониторингу и оценке функционального состояния скелетных мышц и мышечных тканей [3]. В частности, в клинических приложениях необходимость неинвазивного мониторинга состояния поперечно-полосатой и гладкой мускулатуры возникает в процессе анестезии при оперативных вмешательствах. Было показано, что возможен контроль состояния мышц на уровне нервно-мышечной передачи [4], в частности, в процессе послеоперационного восстановления мышечной активности и устранения нервно-мышечной блокады [5]. Здесь используется так называемая пассивная акустическая миография, заключающаяся в регистрации мышечных колебаний звукового диапазона.

Дальнейшее развитие и применение методов ультразвуковой интроскопии для регистрации активности мышечных тканей способно естественным образом дополнить работы по исследованию структуры поперечно-полосатых мышц и физико-химических механизмов процесса мышечных сокращений, выполненных с помощью других физических средств исследования [1,6-11]. В частности, известны работы по применению ультразвуковых доплеровских методов [12,13] для регистрации и спектрального анализа локальных вибраций скелетных мышечных тканей *in vivo* в процессе изометрических сокращений при нагружении мышц. В то же время для создания клинического метода ультразвуковой доплеровской миографии необходимы дальнейшие экспериментальные исследования относительно особенностей регистрации изометрических мышечных колебаний и их спектральных характеристик при различной внешней нагрузке.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящие исследования были проведены с помощью ультразвуковой системы [14], позволяющей регистрировать микронные перемещения мягких тканей ультразвуковым доплеровским методом [13,15,16]. Регистрация локальных изометрических сокращений мышечных волокон методом доплеровской миографии проводилась на плечелучевой мышце предплечья человека *m. flexor digitorum profundus*, которая выполняет функцию сгибания фаланг пальцев [17]. Непосредственно регистрируемой величиной была зависимость от времени величины суммарных перемещений, соответствующих локальным изометрическим мышечным колебаниям в измерительном объеме, формируемом зондирующими импульсами ультразвуковой системы.

Общая схема ультразвуковой доплеровской регистрации локальных перемещений и методы обработки данных детально описаны в работе [13]. Длительность записи сигналов перемещения составляла 9,54с, при этом спектральные характеристики вычислялись для выборок длительностью 2,95с с последующим усреднением спектров различных реализаций. При всех напряжениях мышцы каждого из волонтеров усреднение спектров проводилось по результатам обработки 112 выборок из 16

реализаций сигнала перемещений. В ходе эксперимента были обработаны данные, полученные для четырех полностью здоровых волонтеров в процессе регистрации локальных вибраций мышц в состоянии покоя и при статическом нагружении в 2, 5 и 10 кг, которое измерялось динамометром.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На Рис.1а показана характерная кривая величины локальных перемещений $x(t)$ в состоянии покоя, которая имеет, как видно из рисунка, выраженный шумоподобный характер. Такая же закономерность присуща зарегистрированным кривым локальных случайных перемещений и при любом отличном от нуля нагружении мышц, однако амплитуда флуктуаций, как видно на рис.1б и 1в, увеличивается с ростом нагрузки. Флуктуационная природа изометрических мышечных сокращений связана со стохастическим характером механохимических процессов, протекающих при

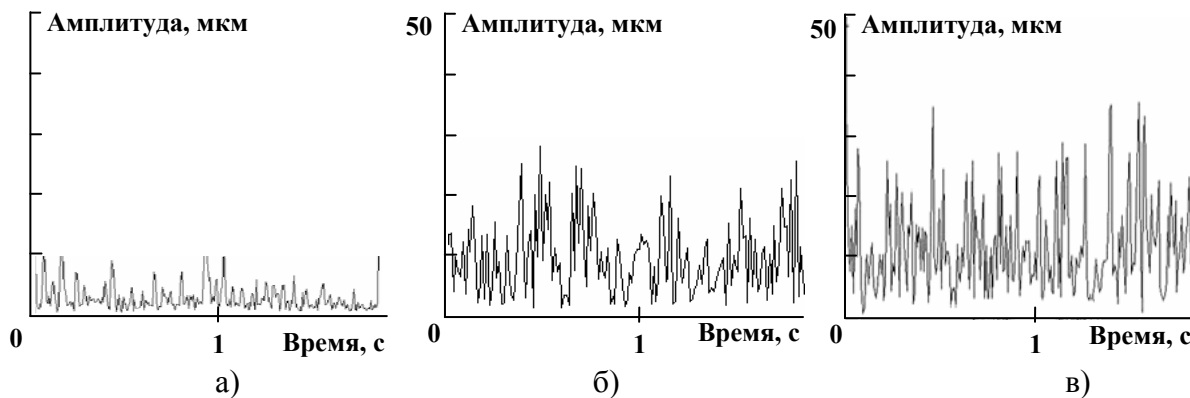


Рис.1. Характерная зависимость от времени величины локальных перемещений в волокнах плечелучевой мышцы предплечья *m. flexor digitorum profundus* человека: а) в состоянии покоя и б) при нагрузке 2 кг, в) при нагрузке 10 кг.

сокращениях. В частности, флуктуационный характер перемещений свидетельствует, очевидно, об отсутствии на микроскопическом уровне корреляции в процессе изометрических сокращений отдельных мышечных волокон. Возрастание же амплитуды флуктуационных колебаний с ростом нагрузки может быть обусловлено, как показано в [18], увеличением амплитуды флуктуаций длины областей перекрытия актиновых и миозиновых филаментов, которые играют роль активных элементов в мышечных саркомерах. Возрастание флуктуаций величины перекрытий связано, в свою очередь, с увеличением числа поперечных мостиков между актиновыми и миозиновыми филаментами.

Графики спектральной плотности мощности перемещений $S(f) = |x(f)|^2$ представлены на рис.2а,2б,2в и 2г в логарифмическом масштабе. В общем случае полученные спектры отражают как амплитудно-частотные характеристики активных элементов мышечных саркомеров, так и особенности ультразвукового доплеровского метода измерения перемещений. Характерной особенностью представленных спектров является их плавное убывание за исключением области очень низких частот, а также некоторое отличие для разных волонтеров. Логарифмические спектры флуктуационных движений мышечных тканей в состоянии напряжения для всех волонтеров характеризуются некоторым возрастанием доли высокочастотных составляющих колебаний и, в частности, относительным уменьшением вклада постоянной составляющей перемещений, которая описывается величиной $S(0)$. Как отмечалось в

[13], постоянная составляющая перемещений и связанная с ней величина $S(0)$ обусловлена преимущественно особенностями фазового метода доплеровских измерений перемещений и, по сути, не отражает характеристик механохимических процессов, протекающих при мышечных сокращениях. Поэтому на рис.3 показаны спектры перемещений, полученные соответственно до и после вычитания постоянной составляющей в каждой из зарегистрированных реализаций изометрических мышечных сокращений.

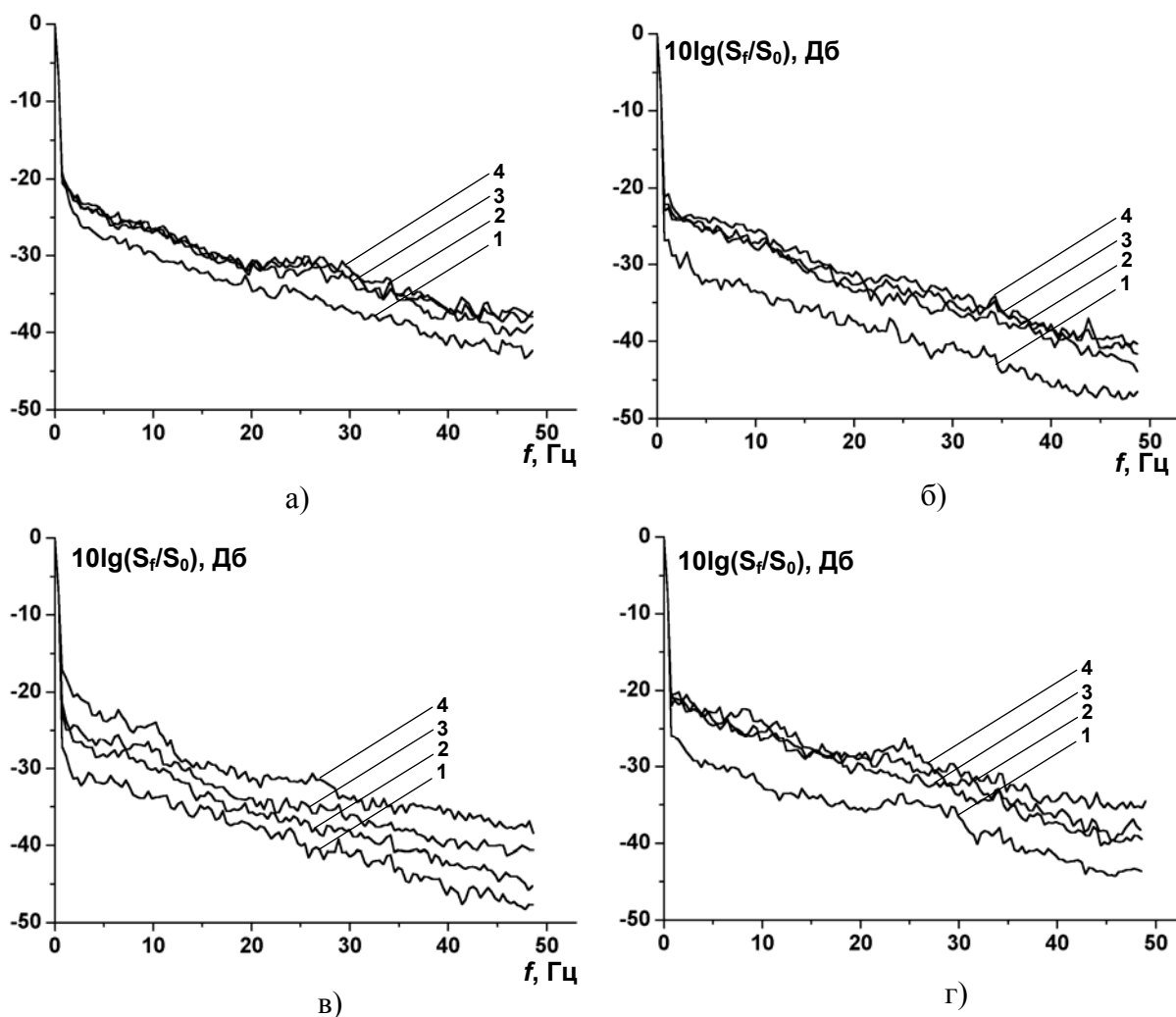


Рис.2. Спектральная плотность мощности перемещений в состоянии покоя (1), при нагрузке 2кг (2), 5кг (3) и 10кг (4) первого (возраст 24 года) а), второго (возраст 40 лет) б), третьего (возраст 52 года) в) и четвертого (возраст 52 года) г) волонтеров.

Из рисунков рис.3а, 3б, 3в, 3г следует, что амплитуда флуктуаций и, соответственно, величина спектральных составляющих возрастают с увеличением внешней нагрузки для всех волонтеров. Нормированные на полную мощность спектральные кривые, показанные на рис.3а, 3б, 3в и 3г, были построены для выяснения действительного соотношения между низкочастотными и высокочастотными спектральными составляющими при различном нагружении. Как видно из этих рисунков, это соотношение остается практически неизменным при изометрических сокращениях в очень широком диапазоне нагрузок. Иными словами,

не изменяются частотные характеристики работы активных элементов мышечных саркомеров – областей перекрытия актиновых и миозиновых филаментов.

Указанные особенности наблюдались для всех обследованных волонтеров. Экспериментально наблюдаемые свойства изометрических мышечных колебаний могут быть интерпретированы, как отмечалось в [18], с использованием общепринятой в настоящее время теории «скольжения» филаментов, выдвинутой Хаксли [19,20]. Вместе с тем, в рамках физической модели [18], последовательно учитывающей упругие свойства мышечных волокон, естественным образом возникает возможность регистрации некоторых собственных резонансных колебаний мышечных волокон, которые наблюдались экспериментально в [21] и не наблюдались в настоящей работе. Причина заключается в том, что в [21] эксперименты проводились на уединенных мышечных волокнах, в то время как в настоящей работе регистрировался суммарный отклик от всего множества мышечных волокон, попавших в измерительный объем. Как показано в [18], даже учет отклика множества саркомеров одного и того же мышечного волокна приводит к подавлению высокочастотных составляющих спектра колебаний. Кроме того, наличие в реальных мышцах мышечных волокон разной длины, от которой зависит величина резонансных частот, также приводит, очевидно, к размыванию возможных механических резонансов. Наконец, для возбуждения колебаний на резонансных частотах необходимо наличие соответствующих частотных составляющих в спектре флуктуаций областей перекрытия, создающих вынуждающую силу.

ВЫВОДЫ

Наиболее оптимальными для регистрации резонансных частот мышечных волокон, как механической системы, являются модельные эксперименты с уединенными волокнами, подобные выполненным в [21]. Иными словами, реальные условия клинического ультразвукового доплеровского исследования мышечных тканей в значительной степени нивелируют возможности проявления собственно механических свойств мышечных волокон. В то же время из приведенных выше результатов следует, что индивидуальные спектры изометрических мышечных сокращений могут заметно отличаться для различных волонтеров. Такое различие отражает, очевидно, индивидуальные особенности всего механохимического цикла работы скелетных мышц конкретного волонтера. Это обстоятельство представляет собой объективную предпосылку для дальнейшего исследования спектральных характеристик изометрических мышечных сокращений и их зависимости от состояния мышечных тканей на уровне нервно-мышечной передачи. О перспективности развития метода ультразвуковой доплеровской миографии свидетельствует также устойчивость частотных характеристик при различном нагружении для каждого из обследованных волонтеров, что проявляется в подобии нормированных спектров.

Ультразвуковая диагностика в связи с информативностью, толерантностью, доступностью, возможностью многократного применения и мобильностью может оказаться перспективным методом диагностики мышечных травм. В настоящее время подобного рода поражения часто недооцениваются ввиду незначительно выраженных клинических проявлений и сложности диагностирования, однако несмотря на их «микроразмер» и «микроклинику», они могут приводить к необратимым изменениям и макротравмам. В этой связи отметим, что другие методы диагностики, например, спортивных травм имеют свои недостатки. Так, рентгенография при поражении мышц часто малоинформативна, а доступность компьютерной томографии (рентгеновской и магнитно-резонансной) ограничивается высокой стоимостью и длительностью выполнения исследования.

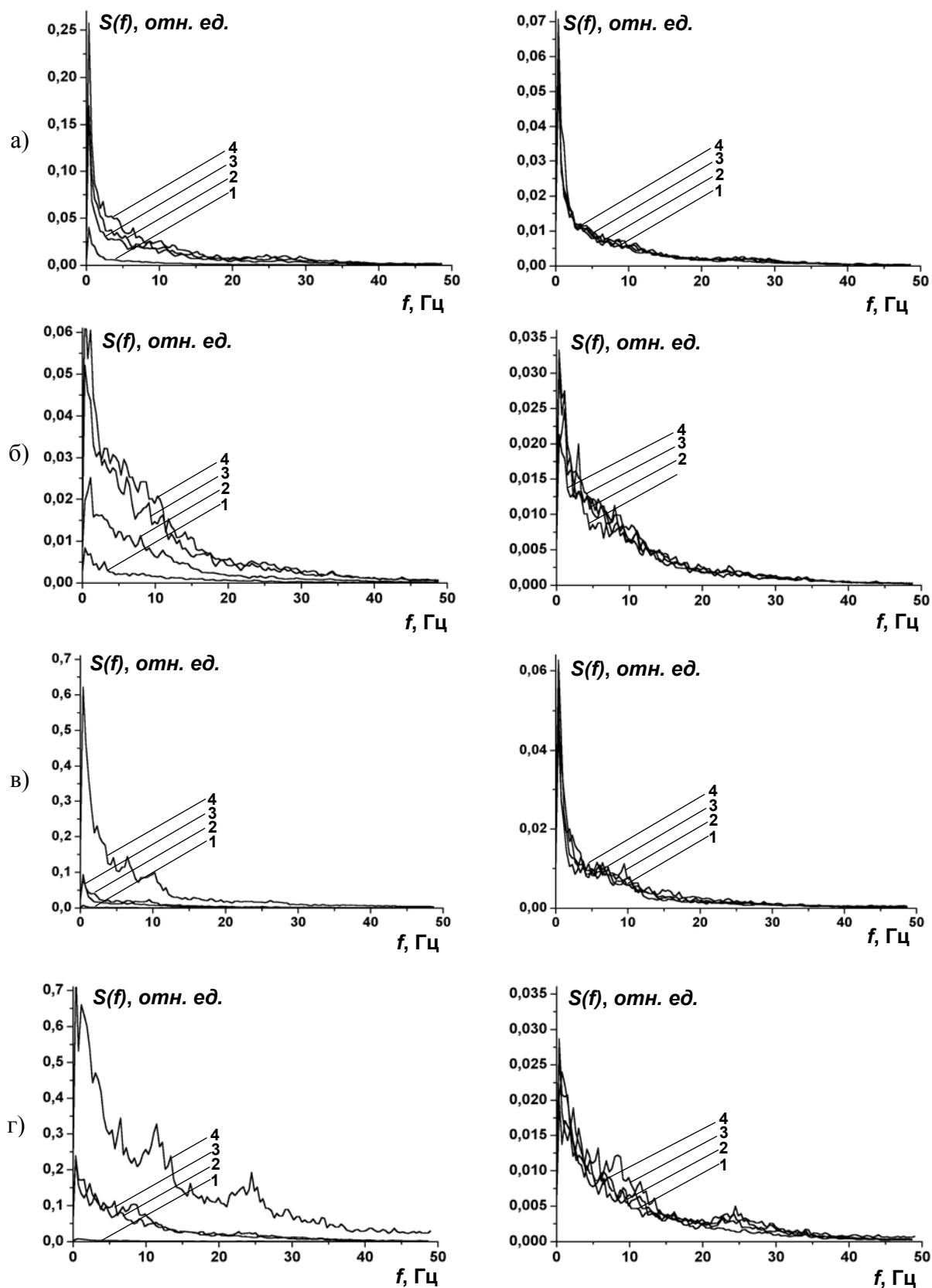


Рис.3 Спектры мощности перемещений в состоянии покоя (1), при нагрузке 2кг (2), 5кг (3) и 10кг (4) первого (возраст 24 года) а), второго (возраст 40 лет) б), третьего (возраст 52 года) в) и четвертого (возраст 52 года) г) волонтеров. Слева представлены ненормированные, а справа – нормированные на полную мощность спектры.

Поэтому, несмотря на отмеченное выше определенное нивелирование механических свойств мышечных волокон, остается открытым и требует дальнейшего изучения также вопрос об эффективности ультразвуковой доплеровской миографии для диагностики мышечных травм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kitamura K., Tokunaga M., Iwane A.H., Yanagida T. A single myosin head moves along an actin filament with regular steps of 5.3 nanometers // *Nature*. – 1999. – V. 397. – P. 129-134.
2. Mashiyama T., Hasegawa H., Kanai H. Designing beam steering for accurate measurement of intima-media thickness at carotid sinus // *Jap. J. Appl. Phys.* – 2006. – V. 45, N5B. – P. 4722-4726.
3. Barry D. T., Cole Neil M., Muscle Sounds are Emitted at the Resonant Frequencies of Skeletal Muscle // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* – 1990. – V. 37. - N.5, - P. 525-530.
4. Hemmerling TM, et al. Phonomyography and mechanomyography can be used interchangeably to measure neuromuscular block at the adductor pollicis muscle // *Anesthesia & Analgesia*. 2004. – V. 98. – P. 377-381.
5. Hemmerling T.M., Michaud G., Babin D., Trager G., Donati F. Comparison of phonomyography with balloon pressure mechanomyography to measure contractile force at the corrugator supercilii muscle // *Can. J. Anaesth.* V. 51. - V. 2. - 2004. - P. 116-121.
6. Katsuyuki Shiroguchi, Kazuhiko Kinoshita jr. Miosin V walks by lever action and Brownian motion // *Science*. – 2007. – V.316. – P. 1208-1212.
7. Reconditi M., Koubassova N., Linari M. et al. The conformation of myosin head domains in rigor muscle determined by X-ray interference // *Biophys. J.* – 2003. – V. 85. – P.1098-1110.
8. Linari M., Brunello E., Reconditi M. et al. The structural basis of the increase in isometric force production with temperature in frog skeletal muscle // *J. Physiol.* – 2005. – V. 567. – P. 459-469.
9. Piazzesi G., Reconditi M., Linari M. et al. Mechanism of force generation by myosin heads in skeletal muscle // *Nature*. – 2002. – V. 415. – P. 659-662.
10. Rayment I., Rypniewski W., Schmidt-Base K. et al. Three dimensional structure of myosin subfragment-1: a molecular motor // *Science*. – 1993. – V. 261. – P. 50-58.
11. Rayment I., Holden M.H., Whittaker M. et al. Structure of actin-myosin complex and its implications for muscle contraction // *Science*. – 1993. – V. 261. – P. 58-65.
12. S.F. Levinson, H. Kanai, H. Hasegawa. Doppler myography – detecting and imaging intrinsic muscle sounds // *Proceedings of the Fourth International Conference on the Ultrasonic Measurement and Imaging of Tissue Elasticity*. – Lake Travis, Austin, Texas, USA, -2005. – P. 100.
13. Кулибаба А.А., Гирнык С.А., Толстолужский Д.А., Баранник Е.А.. Доплеровская миография: локальная регистрация мышечной активности при статическом нагружении // *Біофізичний вісник* – 2008. - Вип. 20 (1) . – С.79-87.
14. Гирнык С.А., Баранник Е.А, Баранник А.Е., Товстяк В.В., Марусенко А.И, Волохов В.А. Ультразвуковая система для определения вязкоупругих свойств мягких тканей // *Вісн. ХНУ № 637. Біофізичний вісник* – 2004. - Вип. 1-2. – С.94-101.
15. Barannik E.A., Girnyk S.A., Tovsnia V.V., Marusenko A.I., Volkhov V.A., Sarvazyan A.P. The influences of viscosity on the shear strain remotely induced by focused ultrasound in viscoelastic media // *JASA*. –2004. V.115. –P.2358-2364.
16. Barannik E.A. Girnyk S.A., Tovsnia V.V., Marusenko A.I., Emilianov S.Y., Sarvazyan A.P. Doppler ultrasound detection of shear waves remotely induced in tissue phantoms and tissue in vitro. // *Ultrasonics*. – 2002.- V.40, - P. 849-853.
17. Э.И. Борзяк, Л.И. Волкова, Е.А. Добровольская и др. *Анатомия человека: В двух томах. т.1.* -М.: Медицина. -1996. -544 с.
18. Баранник Е.А.. Ультразвуковая доплеровская миография: теоретический анализ механических колебаний и измеримых величин // *Біофізичний вісник* – 2009. - Вип. 22 (1) . – С.-.
19. Huxley A.F. Muscle structure and theories of contraction // *Progr. Biophys. Biophys. Chem.* – 1957. – V.7. – P.255-318.
20. Hill T.L., White J.M. On the sliding-filament model of muscular contraction. IV. Calculation of the force-velocity curves // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1968. – V.60, N 3. – P.889-896.
21. D.T. Barry, N.M. Cole. Muscle sounds at the resonant frequencies of skeletal muscle // *IEEE Trans Biomed Eng.* – 1990. – V. 37, N 5. – P.525-531.