

УДК 612-44 + 612.741

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ БЕЛЫХ КРЫС В ХОДЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПЕРТИРЕОЗА

Кметко И.Л., Соколов В.И.

*Донецкий национальный университет, Донецк, Украина
E-mail: v.sobolev@mail.ru*

В экспериментах *in situ* установлено, что в ходе развития экспериментального гипертиреоза латентный период генерации «М-ответа» переднеберцовой мышцей белых крыс претерпевает ряд независимых фаз: укорочения, нарастания и стабилизации. В начальной фазе формирования гипертиреоза латентный период генерации «М-ответа» укорачивался на 15,6% в сравнении с контролем, а при выраженной степени, наоборот – удлинялся на 93%.

Ключевые слова: латентный период возбуждения мышцы, гипертиреоз.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важных проблем физиологии нервно-мышечной системы является проблема гормонального контроля ее функционального состояния. Важное место в этой проблеме принадлежит исследованию физиологических и патофизиологических эффектов гормонов щитовидной железы на различные стороны регуляции базовых параметров сокращения скелетной мышцы [1–4]. К настоящему времени активно исследуется роль тиреоидных гормонов как естественных физиологических регуляторов энергетики сокращающейся скелетной мышцы [3, 5, 6]. В ряде работ [7, 8] установлено, что при экспериментальном гипертиреозе и тиреотоксикозе наступают существенные изменения в теплотворной функции скелетной мышцы, приводятся доказательства участия тиреоидных гормонов в регуляции эрготропных параметров мышечного сокращения – силы, мощности, работоспособности мышцы и т.п. Выявлен характер влияния различных моделей экспериментального гипертиреоза на энергетику мышечного сокращения [3, 5, 7]. Однако ряд аспектов указанной проблемы остаются недостаточно изученными, в частности представляет научно-теоретический и практический интерес вопрос о состоянии одного из базовых показателей сократительного акта – возбудимости скелетной мышцы при нарушении тиреоидного статуса.

Целью работы явилось измерение в условиях *in situ* латентного периода генерации «М-ответа» передней большеберцовой мышцы белых крыс в ходе нарастания степени выраженности экспериментального гипертиреоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 70-ти взрослых белых крысах-самцах массой 285 ± 2 г. Все животные были разделены на 7 групп (табл.1). У животных первых 6-ти групп вызывался экспериментальный гипертиреоз разной степени выраженности путем ежедневных подкожных инъекций водного раствора гормона щитовидной железы трийодтиронина в дозе 15 мкг/кг. Седьмая группа служила контролем.

Показателями развития степени выраженности экспериментального гипертиреоза служили общеизвестные симптомы – температура тела, скорость потребления кислорода, частота сердечных сокращений и масса тела. Показателем температуры тела служила ректальная температура, измеряемая с помощью электронного термометра с точностью $\pm 0,05$ °C. Скорость потребления кислорода определялась с помощью электронного газоанализатора «Radiometer», а частота сердечных сокращений – путем подсчета количества R-зубцов электрокардиограммы с помощью электронного кардиотахометра.

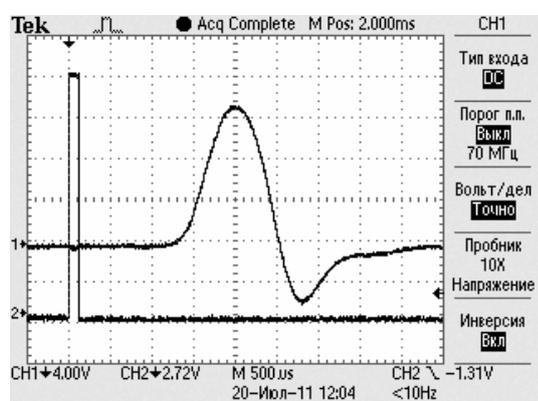


Рис.1 Образец записи «М-ответа» мышцы у крысы контрольной группы

Примечание: приведена копия снимка-оригинала с экрана осциллографа TDS2004C; на снимке изображена кривая «М-ответа» и электрический импульс электростимулятора.

После подготовительного периода у животных всех групп в эксперименте *in situ* измеряли латентный период генерации «М-ответа» переднеберцовой мышцы при одиночных раздражениях импульсами стимулятора (рис.1). Ход опыта был следующим. Животное наркотизировалось (тиопентал натрия, в/б в дозе 75 мг/кг), после чего размещалось в станке экспериментальной установки. После измерения ректальной температуры, скорости потребления кислорода и частоты сердечных сокращений препаровался малоберцовый нерв, который в последующем раздражался импульсами электростимулятора, построенного на базе функционального генератора ICL8038. Амплитуда прямоугольных электрических импульсов стимулятора была равна 300 мВ при длительности импульса 100 мкс и частоте 4 имп/с. Указанный нерв иннервирует переднюю большеберцовую мышцу. Затем в мышцу вводились два металлических игольчатых электрода с межэлектродным расстоянием 2 мм, соединенных с биоусилителем. Это позволило регистрировать вызванный электромиографический ответ («М-ответ») в виде суммарного биоэлектрического потенциала мышцы при раздражении нерва и измерить в последующем латентный период его генерации. Для усиления биопотенциалов мышцы применялся дифференциальный усилитель с режекторным гираторным фильтром (50 Гц), соединенный с цифровым дивайсом (запоминающий цифровой осциллограф TDS2004C фирмы Tektronix) и компьютером.

После окончания опыта животные усыплялись в эксикаторе эфирохлороформным наркозом.

Полученные данные обрабатывались с помощью общепринятых стандартных методов вариационной статистики с использованием пакетов анализа Excel и Statistica, 7.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ состояния физиологических показателей у животных экспериментальных групп показал (табл. 1), что инъекции трийодтиронина вызывали формирование типичных симптомов гипертиреоидного состояния. Так, к окончанию периода инъекций гормона (12-я инъекция) ректальная температура увеличилась до $39,3 \pm 0,2$ °C ($+1,6 \pm 0,22$ °C), а скорость потребления кислорода и частота сердечных сокращений возросли соответственно на 58% и 99 ± 11 уд/мин. Масса тела несколько уменьшилась и составила 256 ± 6 г против 282 ± 2 г у контрольной группы животных.

Таблица 1
Характеристика некоторых физиологических показателей у животных опытных и контрольной групп

Группа	Число инъекций трийодтиронина	Физиологический показатель		
		Ректальная температура, °C	Скорость потребления кислорода, мл/кг мин	Частота сердечных сокращений, уд/мин
2Т3-группа n=10	2	$37,9 \pm 0,1$ $+0,2 \pm 0,14$, $p > 0,05$	$20 \pm 0,31$ $+5\%$, $p > 0,05$	387 ± 5 $+9 \pm 6$, $p > 0,05$
4Т3-группа n=10	4	$38,1 \pm 0,1$ $+0,4 \pm 0,14$, $p < 0,05$	$23 \pm 0,43$ $+21\%$, $p < 0,05$	396 ± 6 $+18 \pm 7$, $p < 0,05$
6Т3-группа n=10	6	$38,4 \pm 0,1$ $+0,7 \pm 0,14$, $p < 0,05$	$27 \pm 0,38$ $+42\%$, $p < 0,05$	415 ± 6 $+37 \pm 7$, $p < 0,05$
8Т3-группа n=10	8	$38,8 \pm 0,1$ $+1,1 \pm 0,14$, $p < 0,05$	$28 \pm 0,45$ $+47\%$, $p < 0,05$	439 ± 7 $+61 \pm 8$, $p < 0,05$
10Т3-группа n=10	10	$38,9 \pm 0,1$ $+1,2 \pm 0,14$, $p < 0,05$	$29 \pm 0,52$ $+52\%$, $p < 0,05$	462 ± 8 $+84 \pm 9$, $p < 0,05$
12Т3-группа n=10	12	$39,3 \pm 0,2$ $+1,6 \pm 0,22$, $p < 0,05$	$30 \pm 0,64$ $+58\%$, $p < 0,05$	477 ± 7 $+99 \pm 11$, $p < 0,05$
К-группа (контроль) n=10	-	$37,7 \pm 0,1$	$19 \pm 0,23$	378 ± 4

Таким образом, можно сделать заключение о том, что эксперименты были выполнены на животных с разной степенью развития экспериментального гипертиреоза – от начальной степени до выраженной.

В ходе развития экспериментального гипертиреоза наступали выраженные изменения со стороны показателя, характеризующего возбудимость скелетной мышцы – латентного периода генерации «М-ответа» (табл. 2). Так, у животных с эутиреоидным статусом (контрольная группа) значение латентного периода составило $1,83 \pm 0,04$ мс. После 2-х кратной инъекции трийодтиронина латентный период генерации «М-ответа» укоротился на $0,18 \pm 0,058$ мс и достиг значения $1,74 \pm 0,05$ мс, что было на 9,3% короче, чем в контроле. В дальнейшем вместе с увеличением числа инъекций трийодтиронина латентный период достигал минимальной из зарегистрированных величин (4ТЗ-группа), а затем начинал прогрессивно удлиняться. При выраженной степени экспериментального гипертиреоза, когда ректальная температура повышалась до $39,3 \pm 0,2$ °С (12ТЗ-группа), латентный период возбуждения мышцы удлинялся по сравнению с контролем на 93% и составлял $3,71 \pm 0,08$ мс.

Таблица 2

Динамика латентного периода генерации «М-ответа» переднеберцовой мышцы белых крыс в ходе формирования экспериментального гипертиреоза

Группа	Число инъекций трийодтиронина	Физиологический показатель	
		Ректальная температура, °С	Латентный период генерации «М-ответа», мс
2ТЗ-группа n=10	2	$37,9 \pm 0,1$	$1,74 \pm 0,05$ $-0,18 \pm 0,058, p < 0,05$
4ТЗ-группа n=10	4	$38,1 \pm 0,1$	$1,62 \pm 0,05$ $-0,30 \pm 0,058, p < 0,01$
6ТЗ-группа n=10	6	$38,4 \pm 0,1$	$1,98 \pm 0,06$ $+0,06 \pm 0,067, p > 0,05$
8ТЗ-группа n=10	8	$38,8 \pm 0,1$	$2,35 \pm 0,07$ $+0,43 \pm 0,076, p < 0,01$
10ТЗ-группа n=10	10	$38,9 \pm 0,1$	$3,60 \pm 0,07$ $+1,68 \pm 0,076, p < 0,01$
12ТЗ-группа n=10	12	$39,3 \pm 0,2$	$3,71 \pm 0,08$ $+1,79 \pm 0,085, P < 0,01$
К-группа (контроль) n=10	-	$37,7 \pm 0,1$	$1,92 \pm 0,03$

Характер зависимости латентного периода возбуждения переднеберцовой мышцы от числа инъекций трийодтиронина (рис. 2) описывается полиномиальным уравнением при высокой степени достоверности аппроксимации кривой ($R^2=0,989$, $p=0,0347$). Из рисунка видно, что зависимость имела S-образный вид с выраженными

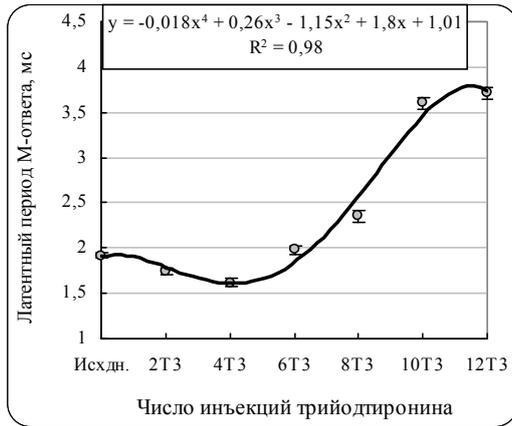


Рис.2. Характер зависимости латентного периода генерации «М-ответа» от количества инъекций трийодтиронина
 Примечание: каждая точка на кривой представляет среднюю величину из 10 вариантов

латентным периодом генерации «М-ответа» и величиной ректальной температуры. Собственно зависимость представлена на рис.3. Как и в предыдущем случае, зависимость описывалась полиномиальным уравнением и визуально имела разнородные участки (секторы).

фазами. Поскольку число инъекций в конечном итоге определяет степень выраженности экспериментального гипертиреоза, то можно полагать, что возбудимость скелетной мышцы на разных этапах формирования состояния гипертиреоза претерпевает определенные стадии, качественно отличающихся друг от друга.

Аналогичная по характеру зависимость имела место и при построении зависимости латентного периода от величины ректальной температуры, которая непосредственно отражает степень выраженности экспериментального гипертиреоза (рис.3). С этой целью первоначально была построена зависимость между

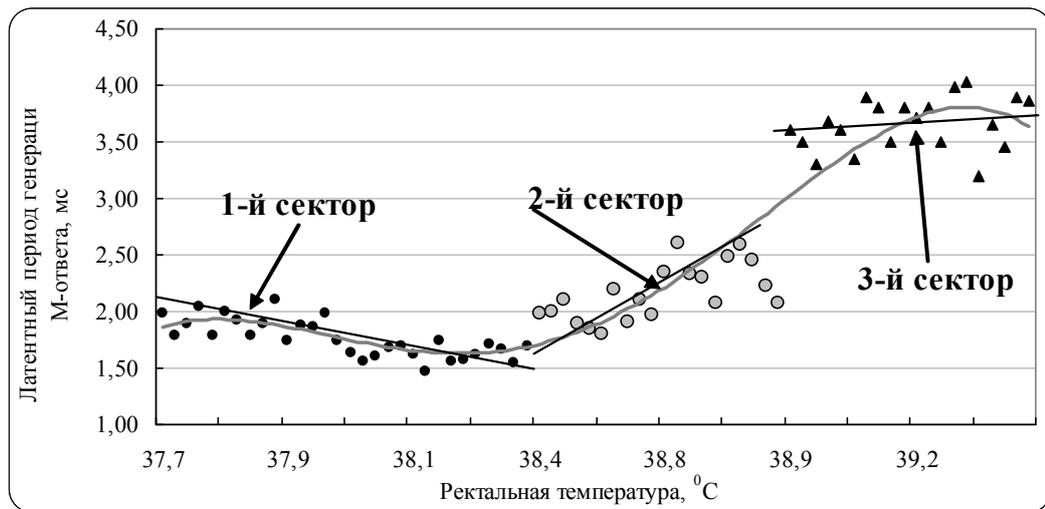


Рис.3. Зависимость латентного периода генерации «М-ответа» от величины ректальной температуры у белых крыс в ходе развития экспериментального гипертиреоза (n=70)

Достаточно большая длина вариационного ряда позволила с целью выяснения возможности существования отдельных множеств в целостной совокупности использовать кластерный и дисперсионный анализы.

В табл.3 представлены результаты кластерного анализа целостной совокупности с применением метода k-средних. Видно, что целостная совокупность хорошо подразделяется на 3 кластера, что свидетельствует о реальности существования в исследуемом вариационном ряду, по крайней мере, трех множеств, располагающихся в разных участках шкалы «Х» (шкалы ректальной температуры).

Таблица 3

К анализу характера зависимости латентного периода генерации «М-ответа» переднеберцовой мышцей белых крыс от величины ректальной температуры в ходе формирования экспериментального гипертиреоза (кластерный анализ)

Физиологический показатель	Ректальная температура, °С		
	КЛАСТЕРЫ		
	I-й n=30	II-й n=20	III-й n=20
	37,9±0,11 °С	38,6±0,13 °С	39,1±0,15 °С
Латентный период генерации «М-ответа», мс	1,76±0,027	2,16±0,06	3,65±0,05
Различия по отношению к данным в 1-ом кластере	-	+0,4±0,065 p<0,05	+1,89±0,057 p<0,05

Обращает на себя внимание тот факт, что в каждом из выделенных множеств характер зависимости латентного периода от ректальной температуры описывается уравнениями прямой линии с разными коэффициентами регрессии (табл.4)., отличающихся не только по своей абсолютной величине, но и по знаку. Так, в начале шкалы температуры латентный период вместе с ростом степени выраженности гипертиреоза укорачивался, что свидетельствует о повышении возбудимости мышечных волокон в начальной стадии развития экспериментального гипертиреоза. В дальнейшем вместе с ростом степени гипертермии, которая отражает выраженность гипертиреоза, латентный период генерации «М-ответа» начинал удлиняться, о чем свидетельствует знак и величина коэффициента регрессии в уравнении (+0,95±0,17 мс/°t). Наконец, при выраженном гипертиреозе, характеризующимся гипертермией 38,9 – 39,4 °С, латентный период возбуждения мышцы, во-первых, существенно удлинялся, и во-вторых, уже не зависел от величины ректальной температуры. Об этом, в частности, свидетельствует

статистически недостоверный коэффициент регрессии в уравнении зависимости (табл.4, рис.3).

Подтверждением существования независимых отдельных множеств в целостном вариационном ряду является результат использования двухвыборочного F-теста для дисперсий. Так, сравнение дисперсий в 1-ом и 2-ом множествах (начало и середина диапазона значений ректальной температуры, рис.3, табл.4) показало, что указанные множества принадлежат к разным совокупностям ($p=0,0284$). Множество, расположенное в конце шкалы температуры ($38,9 - 39,4$ °C) также статистически достоверно отличалось от предшествующего ($p=0,0472$).

Таким образом, в ходе развития экспериментального гипертиреоза возбудимость скелетной мышцы вначале нарастает, а затем ухудшается, оставаясь при высокой степени выраженности экспериментального гипертиреоза на существенно низком уровне.

Таблица 4

К анализу характера зависимости между латентным периодом (ЛП, мс) генерации «М-ответа» и температурой тела (t^0) у животных в разных участках шкалы значений ректальной температуры

Показатель	Диапазоны ректальной температуры, °C		
	37,7 – 38,4	38,4 – 38,9	38,9 – 39,4
Уравнение регрессии	ЛП = $-0,75t^0 + 39,2$	ЛП = $0,95t^0 - 33,5$	ЛП = $0,21t^0 - 6,9$
Коэффициент регрессии, мс/ t^0	$-0,75 \pm 0,12$ $p=1,8 \text{ E-}06$	$+0,95 \pm 0,17$ $p=6,2 \text{ E-}05$	$+0,21 \pm 1,02$ $p=0,32$
Постоянный член	$39,2 \pm 0,92$ $p=2,8 \text{ E-}05$	$-33,5 \pm 6,8$ $p=0,00023$	$-6,9 \pm 10,3$ $p=0,51$
Коэффициент корреляции	$0,75 \pm 0,08$ $p < 0,05$	$0,78 \pm 0,09$ $p < 0,05$	$0,23 \pm 0,21$ $p > 0,05$
Количество вариант (животных)	30	20	20

Данный результат указывает на разнотипные механизмы действия трийодтиронина на фундаментальные характеристики сократительного акта, которые последовательно иницируются и ингибируются в ходе развития выраженного экспериментального гипертиреоза. С нашей точки зрения, механизмы подобного действия трийодтиронина, по-видимому, связаны со способностью тиреоидного гормона изменять электрофизиологические характеристики нервно-мышечного аппарата, в частности модулировать процесс синаптической передачи возбуждения с нерва на мышцу [4, 6]. В результате подобного эффекта трийодтиронина возможны перестройки всех звеньев нервно-мышечной системы, в том числе и нервно-мышечного синапса. В литературе существуют сообщения в пользу позитивного влияния гипертиреоидных состояний на плотность Na^+ -каналов

в плазматической мембране [9–11] и продолжительность нахождения их в открытом состоянии в момент деполяризации мембраны мышечного волокна, а также на активность и концентриацию молекул Ca^{2+} -АТФазы в мембранах саркоплазматического ретикулума, средство контрактильного аппарата мышечного волокна к ионам Ca^{2+} , синтез миофибрилярных белков, активность АТФазы миозина, определяющей тип мышечного волокна и его скоростные характеристики [12–14]. Таким образом, гипертиреоз вызывает многочисленные изменения со стороны различных звеньев нервно-мышечного аппарата, что является проявлением их патофизиологического эффекта, выраженность которого определяется степенью нарушения тиреоидного статуса.

ВЫВОДЫ

1. В экспериментах *in situ* установлено, что в ходе развития экспериментального гипертиреоза латентный период генерации «М-ответа» переднеберцовой мышцей белых крыс претерпевает ряд независимых фаз: укорочения, нарастания и стабилизации.
2. В начальной фазе формирования экспериментального гипертиреоза латентный период генерации «М-ответа» укорачивается на 15,6% в сравнении с контролем, а при выраженной степени, наоборот – удлиняется на 93%.

Перспективы дальнейших исследований связаны с последующим изучением природы выявленного феномена укорочения латентного периода возбуждения мышечных волокон в начальной стадии развития экспериментального гипертиреоза. В частности, в дальнейших исследованиях предполагается выяснение характера влияния измененного тиреоидного статуса на другие звенья сократительного акта в условиях нарастающего экспериментального гипер- и тиреотоксикоза.

Список литературы

1. Неруш П.О. Вікові особливості функціонування нервово-м'язової системи щурів за умов гіпертиреозу / П.О. Неруш, С.А. Макій, О.Г. Родинський // Фізіол. журн. – 2001. – Т.47, №5. – С. 12-17.
2. Соболев В.І. Вплив експериментального тиреозу на енергетику ізометричного скорочення м'яза білого щура (дослідження *in situ*) / В.І. Соболев, Т.В. Москалець // Фізіол. журн. – 2007. – Т.53. – №5. – С.86-90.
3. Труш В.В. Изменение силовых характеристик скелетной мышцы белых крыс в процессе углубления экспериментального гипертиреоза / В.В. Труш, В.И. Соболев // Архив клин. и эксперим. медицины. – 2003. – Т.12, №2. – С.144-150
4. Wolege R.C., Curtin N.A., Hompsheer E. *Energic aspect of muscle contraction*. New York; London, 1983. – 290 p.
5. Попова В.В. Влияние экспериментального гипертиреоза на величину работы мышцы и особенности развития утомления / В.В.Попова, В.И. Соболев // Вісник проблем біології і медицини. -2002. - Вип.4. – С.16-21.
6. Родинський О.Г. Дія прозерину на викликані відповіді скелетного м'яза за умов експериментального гіпертиреозу / О.Г. Родинський // Тези доповідей II національного з'їзду фармакологів України. – Дніпропетровськ. – 2001. – С. 207-208.
7. Соболев В.И. Фазы мышечного сокращения при экспериментальном гипертиреозе / В.И. Соболев, Н.Т. Лапенко // Физиологический журнал СССР им. И.М. Сеченова. – 1986. – № 3. – С. 381-384.

8. Соболев В.И. Влияние экспериментального гипертиреоза на тепловой эффект мышечного сокращения / В.И. Соболев, М.С. Махсудов, Маурисио Дакошта, Рабо Гемедо // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 1993. – № 1. – С. 29-31.
9. Brodie C. Characterization of thyroid hormone effects on Na-K pump and membrane potential of cultured rat skeletal myotubes / C. Brodie, S.R. Sampson // Endocrinology. – 1988. – № 2. – P. 891-897.
10. Clausen T. Regulation of the Na-K pump in skeletal muscle / T. Clausen, M.E. Everts // Kidney Int. – 1989. – №1. – P. 1-13.
11. Harris D.R. Acute thyroid hormone promotes slow inactivation of sodium current in neonatal cardiac myocytes / D.R. Harris, W.L. Green, W. Craelius // Biochem. Biophys. Acta. – 1991. – Vol. 1095, № 2. – P. 175-181.
12. Connelly T.J. L-thyroxine activates the intracellular Ca²⁺ release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum / T.J. Connelly, R. Hayek, S.M. Ukhareva et al. // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1994. – V. 32, № 3. – P. 441-448.
13. Davis P.J. Thyroid hormone regulation of membrane Ca²⁺-ATPase activity / P.J. Davis, F.B. Davis, W.D. Lawrence // Endocr. Res. – 1989. – V. 15. – P. 651-682.
14. Warnick P.R. Rabbit skeletal muscle sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase activity: stimulation in vitro by thyroid hormone analogues and bipyridines / P.R. Warnick, P.J. Davis, F.B. Davis et al. // Biochem. Biophys. Acta. – 1993. – V. 1153. – P. 184-190.

Кметко И.Л. Функціональний стан скелетного м'яза білих щурів в ході розвитку експериментального гіпертиреозу / І.Л. Кметко, В.І. Соболев // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2012. – Т. 25 (64), № 3. – С. 52-60.

В експериментах *in situ* встановлено, що в ході розвитку експериментального гіпертиреозу латентний період генерації «М-відповіді» великогомілковим м'язом білих щурів зазнає ряд незалежних фаз: укорочення, наростання і стабілізації. В початковій фазі формування гіпертиреозу латентний період генерації «М-відповіді» коротшав на 15,6% порівняно з контролем, а при виразному ступені, навпаки – подовжувався на 93%.

Ключові слова: латентний період збудження м'яза, гіпертиреоз.

Kmetko I.L. The functional condition of the skeletal muscle of white rats in dynamics of the development of experimental hyperthyreosis / Kmetko I.L., Sobolev V.I. // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No 3. – P. 52-60.

In experiments *in situ* it has been established, that the latent period of the generation of "M-answer" of a forward tibial muscle of white rats has been undergone a number of independent phases in a process of the development of experimental hyperthyreosis: shortenings, increase and stabilization. The latent period of the generation of "M-answer" had been shortened for 15,6% in comparison with control in an initial phase of the formation of hyperthyreosis, and, on the contrary, had been extended for 93% at the expressed degree of hyperthyreosis.

Keywords: latent period of muscular excitement, hyperthyreosis.

Поступила в редакцію 12.09.2012 г.