

УДК 616.441-008.61: [612.741/.744/.745.1]

**ВЛИЯНИЕ НОРАДРЕНАЛИНА НА ПАРАМЕТРЫ СОКРАЩЕНИЯ МЫШЦЫ
БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПЕРТИРЕОЗЕ
(исследование in situ)**

Алиева Г.Ф., Соболев В.И.

Донецкий национальный университет, Донецк, Украина

E-mail: v.sobolev@mail.ru

Установлено, что при экспериментальном гипертиреозе легкой степени выраженности в условиях in situ существенно укорачивается как латентный период возбуждения мышечных волокон передней большеберцовой мышцы белых крыс (-9%), так и латентный период ее сокращения (-25%). Многократные инъекции трийодтиронина повышают чувствительность скелетной мышцы к адренергической стимуляции. Экспериментальный гипертиреоз стимулирует эрготропную функцию мышцы, что выражается в увеличении (+33%) способности к выполнению внешней работы.

Ключевые слова: сокращение мышцы, гипертиреоз, норадреналин.

ВВЕДЕНИЕ

Физиология нервно-мышечной системы по-прежнему остается одной из интенсивно изучаемых областей современной физиологии [1-4]. Важное место в этой проблеме принадлежит исследованию нервно-гуморальной регуляции функции скелетной мышцы [4-7]. В первую очередь этот относится к вопросу о взаимодействии разных гормональных систем в обеспечении энергетической функции скелетной мышцы. К настоящему времени активно исследуется роль тиреоидных гормонов как естественных физиологических регуляторов энергетики сокращающейся скелетной мышцы [2, 6, 8-11]. В ряде работ [8, 9, 12] установлено, что при экспериментальном гипертиреозе наступают существенные изменения в теплотворной функции скелетной мышцы, что выражается в повышении "выхода" тепла на единицу развиваемой силы либо выполненной работы. Так, в многочисленных публикациях [2, 6, 9, 10] приводятся доказательства участия тиреоидных гормонов в регуляции энергетической стоимости сократительного акта, а также эрготропных параметров мышечного сокращения – силы, мощности, работоспособности мышцы и т.п. Выявлен характер влияния различных моделей экспериментального гипертиреоза на энергетику мышечного сокращения.

Достаточно подробно исследована и роль катехоламинов в обеспечении функционального состояния нервно-мышечной системы, хотя абсолютное большинство работ посвящено исследованию биохимии скелетной мышцы.

Следует отметить, что в реальных физиологических условиях скелетная мышца находится под регулирующим воздействием не одного, а сразу нескольких гормональных факторов. В связи с этим возникает важная проблема изучения состояния нервно-мышечной системы при одновременном действии на скелетную мышцу комплекса гормонов.

Целью работы явилось изучение в условиях *in situ* параметров сокращения передней большеберцовой мышцы белых крыс при одновременной гормональной стимуляции организма животных (в условиях *in vivo*) трийодтиронином и одним из катехоламинов α -адренергического типа действия – норадреналином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были выполнены на белых крысах-самцах со средней массой $249 \pm 1,8$ г. Животные были разделены на 2 группы. У животных первой группы (24 крысы) вызывался экспериментальный гипертиреоз легкой степени выраженности, путем подкожного введения водного раствора трийодтиронина в дозе 25 мкг/кг. Гормон вводился до момента достижения ректальной температуры значения $39,0^{\circ}\text{C}$. Число инъекций колебалось от 8 до 12. Животные второй группы (12 крыс) были контрольными (ректальная температура составляла $37,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$).

После окончания подготовительного периода у крыс всех групп в условиях *in situ* исследовался ряд функциональных параметров вызванного мышечного сокращения. Ход опыта был следующим. Животное наркотизировалось (тиопентал в дозе 100 мг/кг внутривенно), а затем фиксировалось в станке установки (рис. 1).

Далее препаровался малоберцовый нерв, который в дальнейшем помещался в погружной электрод. Названный нерв иннервирует переднюю большеберцовую мышцу, сокращение которой вызывает сгибание стопы задней лапки. Стопа задней лапки животного крепилась зажимом, после чего на уровне большого пальца затягивалась лигатура, соединенная с потенциометрическим датчиком (датчик перемещения). При электрическом раздражении малоберцового нерва стопа изгибалась, поднимая груз массой 100 граммов. Зная высоту, на которую поднимался груз, в дальнейшем можно было рассчитать выполненную внешнюю работу.

Затем в переднюю большеберцовую мышцу вводились два металлических игольчатых электрода с межэлектродным расстоянием 2 мм, соединенных с биоусилителем. Это позволило регистрировать вызванный электромиографический ответ («ЭМГ-ответ») в виде суммарного биоэлектрического потенциала мышцы при раздражении нерва (рис. 2) и измерить в последующем латентный период возбуждения мышцы (рис. 3). Для усиления биопотенциалов мышцы применялся дифференциальный электрометрический усилитель с режекторным гираторным фильтром (50 Гц), соединенный с цифровым интерфейсом и компьютером.

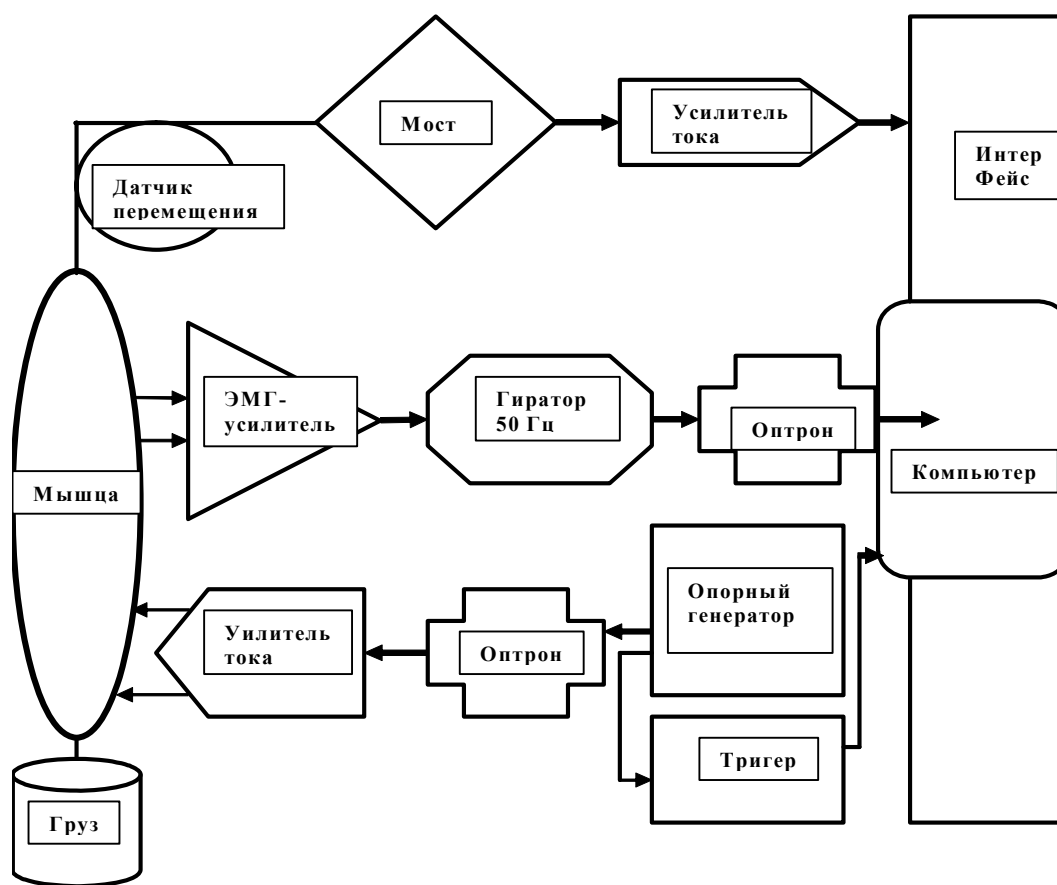


Рис.1. Блок-схема экспериментальной установки

В первой серии опытов регистрировали «ЭМГ-ответ» при одиночных кратковременных изотонических сокращениях мышцы. В ходе проведения опыта на малоберцовый нерв наносилось электрическое раздражение с параметрами: длительность импульсов – 0,15 мс, частота - 4 Гц. В качестве опорного генератора использовался измерительный генератор прямоугольных импульсов Г5-6А; амплитудные параметры импульса задавались регулируемым усилителем постоянного тока с оптоэлектронной гальванической развязкой. Амплитуду импульсов электростимулятора в ходе нанесения раздражения постепенно увеличивали до тех пор, пока не появлялся «ЭМГ-ответ», после чего в течение 3 с производилась компьютерная запись вызванных потенциалов мышцы.

Во второй серии опытов изучались параметры метрического укорочения мышцы при длительном изотоническом сокращении. С этой целью малоберцовый нерв раздражался импульсами длительность 0,5 мс при частоте 80 Гц, продолжительность раздражения составила 9 с.

При анализе полученных данных вычислялись следующие показатели:

- латентный период возбуждения мышцы, который численно равен времени ($мс$) от начала раздражения нерва до появления первого электромиографического ответа в виде суммирующего электрического потенциала мышцы;
- латентный период сокращения мышцы ($мс$), т.е. время от момента нанесения раздражения на нерв до появления первого метрического укорочения мышцы ($h=мм$);
- внешняя работа ($мДж$), выполненная мышцей при изотоническом сокращении с грузом 100 г.

Все названные параметры сокращения рассчитывались в период «До введения норадреналина» и «После введения». Катехоламин вводился внутримышечно в противоположную конечность в дозе 0,3 мг/кг.

После окончания опыта животные усыплялись в эксикаторе эфирохлороформенным наркозом.

Полученные данные обрабатывались с помощью стандартных методов вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ экспериментальных данных, полученных после измерения значений латентного периода возбуждения мышечных волокон у крыс контрольной и гипертиреотической группы в условиях «До введения норадреналина» и «После введения гормона», показал, что оба гормона оказывают существенное влияние на исследуемый параметр скелетной мышцы.

На Рис. 2 представлена суммарная запись электромиограмма у крысы гипертиреотической группы при раздражении нерва электрическими импульсами длительностью 0,15 мс. Видно, что на фоне шумов биоусилителя и слабой электрической активности мышцы отчетливо видны суммирующие потенциалы, отражающие генерацию мышечными волокнами «ЭМГ-ответа». Амплитуда этого ответа в нашем случае колеблется около 300-600 мкВ. Следует отметить, что данная методика не предназначалась для измерения абсолютных величин ЭМГ-ответа, поскольку он зависит от многих факторов, в частности от метрической площади электрода, его расположения в мышце, межэлектродного расстояния и др. В связи с этим анализ амплитудной характеристики «ЭМГ-ответа» проводится не будет, так как это не входило в задачи настоящего исследования.

Характер использованной методики позволяет провести измерение абсолютного значения латентного периода возбуждения мышечных волокон. С этой целью на записи ЭМГ-ответа анализировались фрагменты, включающие одиночные ЭМГ-ответы. Проведенный анализ показал, что у крыс контрольной группы средняя величина латентного периода возбуждения мышцы в период «До введения норадреналина» составила $4,08 \pm 0,10$ мс. Инъекция норадреналина вызывала определенные изменения со стороны данного показателя. Так, через 5 мин после инъекции катехоламина значение латентного периода возбуждения мышцы уменьшилось до $3,50 \pm 0,11$ мс ($p < 0,05$).

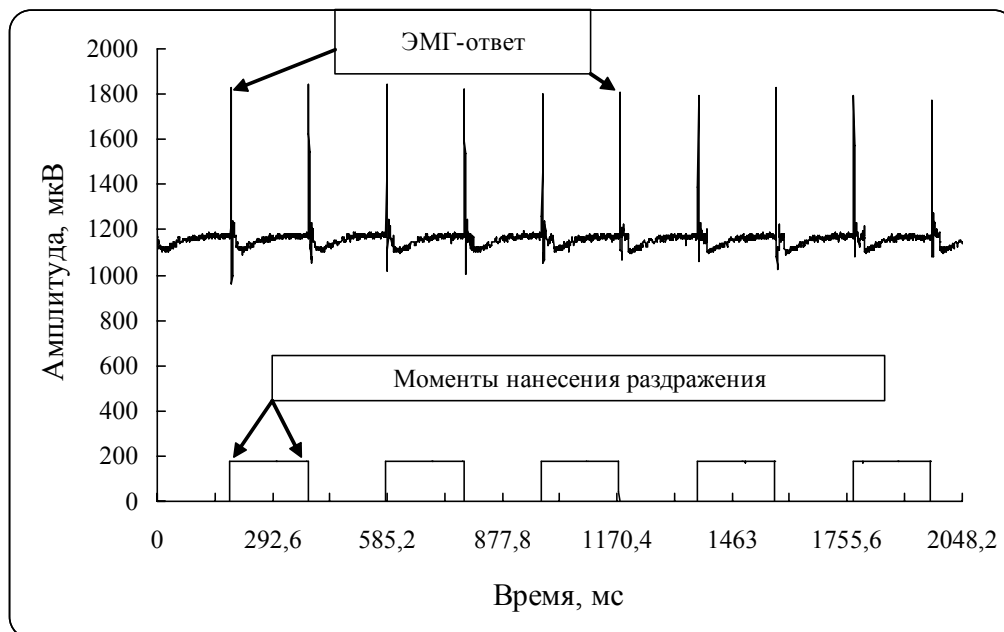


Рис. 2. Общий вид записи электромиографического ответа (ЭМГ-ответ) передней большеберцовой мышцы белой крысы при ритмическом раздражении малоберцового нерва.

Примечание: стрелками указаны моменты нанесения раздражения и ЭМГ-ответы; продолжительность импульса электростимулятора составляет 0,15 мс; прямоугольники, следующие друг за другом в нижней части рисунка, отражают не форму импульса, а указывают на момент нанесения раздражения (использован триггер, когда каждый импульс электростимулятора «опрокидывает» схему в логический «0» или «1»).

Латентный период возбуждения мышцы определяется многими составляющими и включает в себя, по меньшей мере, следующие компоненты: время генерации потенциала действия малоберцового нерва в ответ на одиночный импульс электростимулятора, время проведения потенциала действия по нерву к нервно-мышечному синапсу, время синаптической задержки, время генерации тока мышцы. Кроме того, поскольку при раздражении малоберцового нерва амплитуда импульсов электростимулятора экспериментатором постепенно увеличивалась до момента генерации тока действия мышцы (т.е. на уровне несколько выше пороговой величины), то ЭМГ-ответ отражал возбуждение наиболее чувствительных мышечных волокон. Как видно, катехоламин норадреналин укорачивал латентный период возбуждения мышцы крыс контрольной группы. Природа данного феномена, по-видимому, может быть связана с развитием деполяризации клеточной мембраны под влиянием норадреналина. В связи с этим порог возбуждения отдельных мышечных волокон уменьшался, что и явилось причиной более раннего проявления ЭМГ-ответа. Естественно, возможны и другие

механизмы укорочения латентного периода возбуждения мышечных волокон под влиянием адренергической стимуляции.

Аналогичный анализ был проведен и в отношении мышцы гипертиреоидных крыс. В этой связи представляют интерес следующие моменты. Во-первых, экспериментальный гипертиреоз легкой степени выраженности сам по себе вызывал укорочение латентного периода возбуждения мышечных волокон. Так, значение латентного периода возбуждения мышцы крыс гипертиреоидной группы составило $3,71 \pm 0,08$ мс (у контроля $4,08 \pm 0,10$ мс), или на 9% короче ($p < 0,05$). Как видно, инъекции трийодтиронина, вызывающие развитие легкой степени экспериментального гипертиреоза, подобно норадреналину у крыс контрольной группы, вызывали укорочение латентного периода возбуждения мышечных волокон. Механизм данного явления многогранен, и может быть связан как с развитием исходной деполяризации мембран мышечных волокон под влиянием трийодтиронина, так и структурными изменениями собственно мышечных волокон при экспериментальном гипертиреозе [9, 13, 14].

Во-вторых, введение норадреналина крысам гипертиреоидной группы приводило к еще более значительному укорочению латентного периода возбуждения мышечных волокон (рис. 3). Так, значение данного показателя уменьшалось с $3,71 \pm 0,08$ мс («До введения норадреналина») до $3,01 \pm 0,09$ мс, или на $0,70 \pm 0,12$ мс ($p < 0,05$) в период «После введения норадреналина». Как видно, адренергическая стимуляция гормоном норадреналином в условиях *in vivo* вызывает однонаправленные изменения со стороны показателя времени латентного периода возбуждения скелетных мышечных волокон как у крыс контрольной группы, так и животных с легкой степенью выраженности экспериментального гипертиреоза.

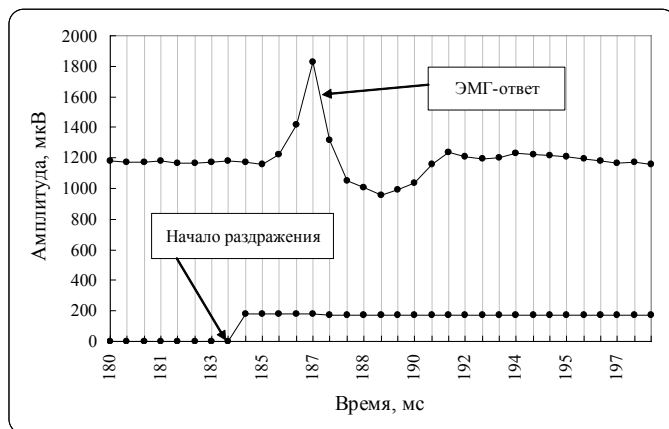


Рис. 3. К определению времени латентного периода возбуждения большеберцовой мышцы белой крысы.

Примечание: выделен начальный фрагмент из общей записи электромиографического ответа на рис. 2; вычисленный латентный период равен 2,93 мс; точки на кривых указывают на моменты измерения цифрового сигнала с квантованием 0,5852 мс; для построения оцифрованных кривых использовалась программа Excel.

На следующем этапе анализа полученных данных представляют интерес результаты исследования второго функционального параметра мышцы – латентного периода мышечного сокращения (укорочения). Напомним, что указанный параметр численно равен времени от момента нанесения раздражения на малоберцовый нерв до появления первого признака метрического укорочения передней большеберцовой мышцы белых крыс. На Рис.4 иллюстрирован ход определения латентного периода укорочения скелетной мышцы.

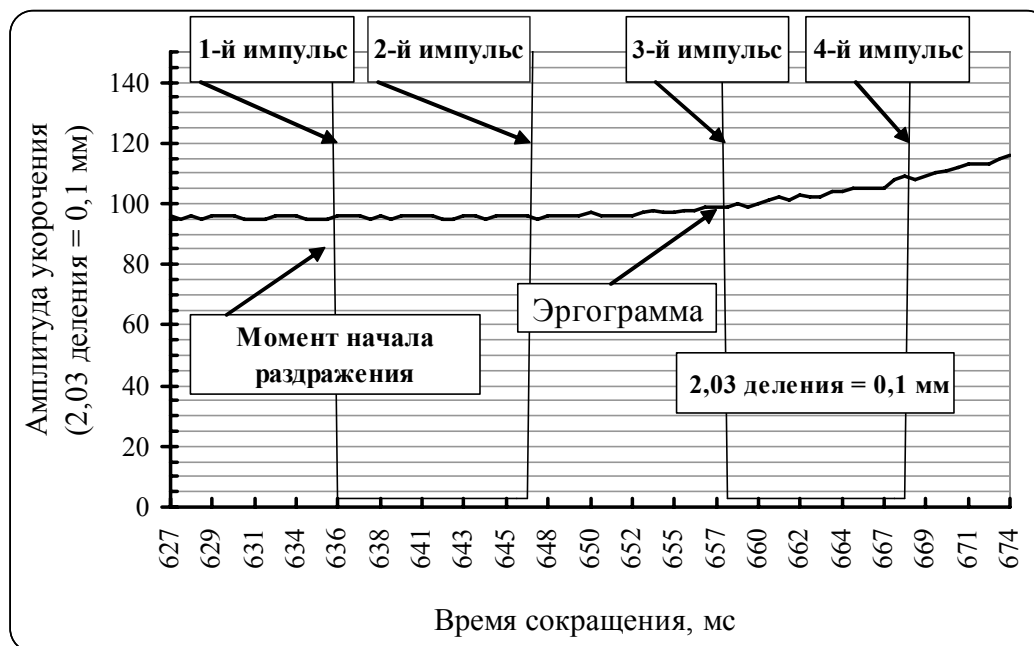


Рис. 4. Определение латентного периода сокращения (укорочения) переднеберцовой мышцы белой крысы.

Примечание: измеренное время латентного периода укорочения мышцы составляет 21 мс; амплитуда укорочения мышцы отражена в относительных делениях шкалы «Х» при калибровочном числе: 2,03 деления = 0,1 мм укорочения мышцы.

Результаты проведенного анализа позволяют сделать следующие выводы. Во-первых, экспериментальный гипертиреоз легкой степени выраженности укорачивает латентный период мышечного сокращения (укорочения). Так, если у животных контрольной группы он составлял $28,9 \pm 0,9$ мс, то у гипертиреоидных крыс соответственно $21,5 \pm 1,0$ мс, или был на $7,4 \pm 1,3$ мс короче (25%, $p < 0,05$).

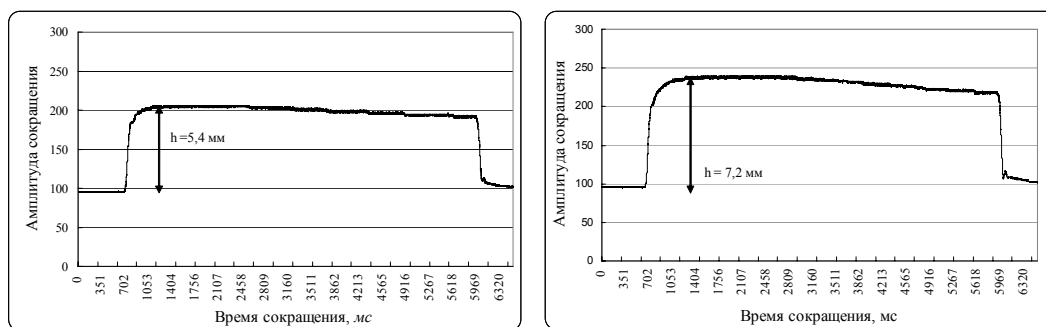
Во-вторых, адренергическая стимуляция белых крыс путем внутримышечного введения норадреналина вызвала укорочение времени латентного периода сокращения мышцы как у крыс контрольной группы, так и животных с легкой степенью выраженности экспериментального гипертиреоза. Так, мышца контрольных животных в период «До введения норадреналина» укорачивалась

через $28,9 \pm 0,9$ мс, а после введения гормона – через $26,4 \pm 0,7$ мс, или на $2,5 \pm 1,1$ мс быстрее (-10% , $p < 0,05$).

Еще более выраженный эффект норадреналин оказывал у животных с легкой степенью выраженности экспериментального гипертиреоза. Так, у крыс данной группы в период «До введения норадреналина» латентный период мышечного сокращения составлял $21,5 \pm 1,0$ мс, а после введения гормона укорачивался до $18,0 \pm 0,8$ мс, т.е. становился на $3,5 \pm 1,3$ мс меньше (-16% , $p < 0,05$). Как видно, эффект норадреналина на фоне экспериментального гипертиреоза легкой степени выраженности был в 1,4 раза больше, чем у животных контрольной, эутиреоидной группы.

Таким образом, трийодтиронин, во-первых, укорачивал латентный период мышечного сокращения, и, во-вторых, усиливал эффект норадреналина на данный параметр сократительного акта.

Многочисленные инъекции трийодтиронина оказывали выраженное влияние и на такой показатель сокращения мышцы, как объем выполненной внешней работы при изотоническом сокращении. На Рис.5 представлены две эргограммы (записи метрического укорочения мышцы) у крыс контрольной и гипертиреоидной группы за весь цикл сократительного акта. В частности видно, что мышца гипертиреоидного животного укорачивалась на большую величину (амплитуду). В результате объем внешней работы, выполненный мышцей гипертиреоидных крыс, был существенно больше. Так, в среднем мышца крыс гипертиреоидных животных выполняла работу на 33% больше ($p < 0,05$), чем крыс контрольной группы.



А

Б

Рис. 5. Образцы записи изотонического гладкого тетануса большеберцовой мышцы белой крысы контрольной (А) и гипертиреоидной (Б) группы.

Таким образом, результаты исследования функциональных параметров, характеризующих состояние нервно-мышечной системы белых крыс, показали, что тиреоидный гормон трийодтиронин, вызывающий в нашей экспериментальной модели гипертиреоз легкой степени выраженности ($T_{\text{рект.}} = 38,9 \pm 0,1$ °C), оказывает стимулирующее влияние на все изученные показатели сократительного акта: латентные периоды возбуждения и сокращения мышцы, а также ее эрготропную функцию (способность к выполнению внешней работы). Экспериментальный

гипертиреоз использованной модели повышает адренергическую чувствительность мышцы, что выразилось в более значительном укорочении латентных периодов возбуждения и укорочения мышцы под влиянием внутримышечного введения норадреналина.

Механизмы подобного действия трийодтиронина, по-видимому, связаны со способностью тиреоидного гормона изменять электрофизиологические характеристики нервно-мышечного аппарата, а также энергетику сократительного акта, в частности коэффициент полезного действия мышечного сокращения [9, 10, 12, 15]. В результате подобного эффекта трийодтиронина возможны перестройки всех звеньев нервно-мышечной системы, в том числе и нервно-мышечного синапса.

ВЫВОДЫ

1. При экспериментальном гипертиреозе легкой степени выраженности в условиях *in situ* значительно укорачивается как латентный период возбуждения мышечных волокон передней большеберцовой мышцы белой крысы (-9%), так и латентный период ее сокращения (-25%).
2. Многократные инъекции трийодтиронина повышают чувствительность скелетной мышцы белых крыс к адренергической стимуляции, что выразилось в более значительном укорочении латентных периодов возбуждения и укорочения мышцы под влиянием внутримышечного введения норадреналина.
3. Экспериментальный гипертиреоз стимулирует эрготропную функцию передней большеберцовой мышцы белых крыс, что выражается в увеличении (+33%) способности к выполнению внешней работы.

Перспективы дальнейших исследований связаны с последующим изучением природы выявленного феномена укорочения латентных периодов возбуждения и сокращения мышечных волокон при различном тиреоидном статусе. В частности, предполагается выяснение характера влияния экспериментального тиреотоксикоза и атиреоза на сократительный акт в условиях стимуляции катехоламинами различной адренергической природы (α - и β -адреномиметиками).

Список литературы

1. Алюхин Ю.С. Коэффициент полезного действия мышцы и составляющие расхода энергии в мышцах / Ю.С. Алюхин // Успехи физиол. наук. –1987. – Т.18, № 8. – С. 98-113.
2. 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.
3. Якименко М.А. Механизмы мышечного термогенеза / М.А. Якименко // Съезд Всесоюзного физиологического общества им. И.П.Павлова. – Кишинев, 1987. – Т.1. – С. 242.
4. Ramsey I.D. Thyrotoxic myopathy / I.D. Ramsey // In: Thyroid disease and muscle dysfunction. – London – Tonebridge. William Heinemann Medical Books LMD. – 1974. – P. 1–51.
5. Иванов К.П. Основы энергетики организма: теоретические и практические аспекты. Т.1. Общая энергетика. Теплообмен и терморегуляция / Иванов К.П. – Л.: Наука, 1990. – 307 с.
6. Москалец Т.В. Влияние тиройдэктомии на эрготропную функцию переднеберцовой мышцы белых крыс (исследование *in situ*) / Т.В. Москалец, В.И. Соболев // Вісник проблем біології і медицини. – 2006. – Вип.3. – С. 119–124.

7. Wolege R.C. *Energetic aspect of muscle contraction* / Wolege R.C., Curtin N.A., Hompsheer E. – New York; London, 1983. – 290 p.
8. Короткова Т.П. Влияние 2,4-динитрофенола на температурный эффект вызванного мышечного сокращения у белых крыс после многократных инъекций катехоламина изопропилнорадреналина / Т.П. Короткова, В.И. Соболев // *Вісник Донецького університету. – Сер.А: Природничі науки*, 2002. – Вип. 2. – С. 353–355.
9. 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.*
10. Соболев В.И. Вплив експериментального атиреозу на енергетику ізометричного скорочення м'яза білого щура (дослідження *in situ*) / В.И. Соболев, Т.В. Москалец // *Фізіологічний журнал. – 2006. – Т.53, №5. – С.86–90.*
11. Труш В.В. Влияние экспериментального гипертиреоза различной степени выраженности на утомляемость скелетной мышцы белых крыс / В.В.Труш, В.И.Соболев // *Український морфологічний альманах. – 2005. – Т. 3, № 3. – С. 93–97.*
12. Шлыкова С.Г. Энергетика сокращения скелетной мышцы у белых крыс в ходе развития экспериментального гипертиреоза / С.Г.Шлыкова, В.И.Соболев // *Вісник проблем біології і медицини. – 2006. – Вип.3. – С.39–45.*
13. Cakir Mehtap. Musculoskeletal manifestations in patients with thyroid disease / Mehtap Cakir, Nehir Samanci // *Clin. Endocrinol. – 2003. – Vol. 59, № 2. – P. 162–167.*
14. Hulbert A.J. Thyroid hormones and their effects: a new perspective / A.J.Hulbert // *Biological review of the Cambridge Philosophical Society. – 2000. – V.75, № 4. – P. 519–631.*
15. Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов / Болдырев А.А. – М.: МГУ, 1985. – 207 с.

Алієва Г.Ф. Вплив норадреналіну на параметри скорочення м'яза білих щурів за експериментального гіпертиреозу (дослідження *in situ*) / Г.Ф.Алієва, В.И.Соболев // *Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2010. – Т. 23 (62). – № 2. – С. 11-20.*

Встановлено, що за експериментального гіпертиреозу легкого ступеню виразності в умовах *in situ* значно коротшає як латентний період збудження м'язових волокон переднього великогомілкового м'яза білого щура (-9%), так і латентний період його скорочення (-25%). Багатократні ін'єкції трийодтироніну підвищують чутливість скелетного м'яза білих щурів до адренергічної стимуляції. Експериментальний гіпертиреоз стимулює ерготропну функцію переднього великогомілкового м'яза білих щурів, що виражається в збільшенні (+33%) здібності до виконання зовнішньої роботи.

Ключові слова: скорочення м'яза, гіпертиреоз, норадреналін.

Alieva G. F. Influence of noradrenaline on parameters of muscle contraction of white rats at experimental hyperthyroidism (research *in situ*) / G. F. Alieva, V.I. Sobolev // *Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2010. – V.23 (62). – № 2. – P. 11-20.*

In experiments on the white rats in conditions *in situ* it has been established, that the experimental hyperthyroidism had caused to the essentially reduction of the latent period of the excitement (-9%) and contraction (-25%) of the muscular fibres of the forward tibial muscle. Frequentative injections of triiodothyronine are increasing of the sensitivity of a skeletal muscle to adrenergic stimulation. Experimental hyperthyroidism is stimulating of the ergotropic function of the muscle that is being expressed in increase of its ability (+33 %) to execution of external work.

Keywords: muscle contraction, hyperthyroidism, noradrenaline.

Поступила в редакцію 06.05.2010 г.