

© Т.И. Станишевская

УДК 612.44 + 612.74

Т.И. Станишевская

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАТЕНТНОГО ПЕРИОДА ГЕНЕРАЦИИ «М-ОТВЕТА» СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

Донецкий национальный университет (г. Донецк)

Работа выполнена в Донецком национальном университете в рамках госбюджетной НИР «Роль биологично активних речовин та їх взаємодія в регуляції фізіологічних функцій організму в нормі та при різних патологічних станах» (номер гос.регистрации 0109U008621).

Вступление. Изучение механизмов тиреоидного контроля функционального состояния нервно-мышечной системы по-прежнему остается предметом многочисленных экспериментальных исследований [5, 7, 8]. В работах ряда авторов показано, что гормоны щитовидной железы способны оказывать влияние на плотность и мобильные характеристики Na^+ -каналов [10], активность Na^+/K^+ -АТФазы плазматической мембраны [10] и миозиновой АТФазы сократительного аппарата, степень сродства актиновых нитей к ионам Ca^{2+} [12], плотность и функциональное состояние Ca^{2+} -каналов мембраны саркоплазматического ретикулума [1] и активность его Ca^{2+} - помпы [12] и др. По мнению некоторых авторов, нарушение нервно-мышечной передачи под влиянием избыточных концентраций тиреоидных гормонов в организме может возникать по причине качественных или количественных изменений в холинорецепторной системе [3], недостатка ацетилхолина в пресинаптических терминалях или затруднения его выброса [3], а также изменения активности холинэстеразы [4]. Кроме того, Г.А. Гайдиной в электрофизиологических исследованиях [2] был получен ряд фактов, косвенно свидетельствующих в пользу неодинаковой степени нарушения процесса нервно-мышечной передачи в икроножной мышце тиреоидизированных кроликов и отражающих повышение функциональной неоднородности мышцы.

Таким образом, нарушение тиреоидного статуса вызывает многочисленные изменения со стороны различных звеньев нервно-мышечного аппарата, что является проявлением их патофизиологического эффекта. Однако остается недостаточно исследованным вопрос о состоянии базовых показателей нервно-мышечной системы в тяжелой стадии течения тиреотоксикоза, в частности, остается невыясненным характер влияния экспериментального тиреотоксикоза на параметры, отражающие ранние этапы возбуждения мышцы.

Целью работы явилось выяснение в условиях *in situ* характера связи между продолжительностью латентного периода возбуждения передней большеберцовой мышцы белых крыс и уровнем

циркулирующего свободного трийодтиронина при выраженном тиреотоксикозе.

Объект и методы исследования. Эксперименты были выполнены на 30-ти взрослых беспородных белых крысах-самцах. У животных первой группы (15) вызывался экспериментальный тиреотоксикоз (тиреоидизированная группа) путем подкожного введения водного раствора трийодтиронина (25 мкг/кг в течение 10 дней). Вторая группа (43 крыс) была контрольной. У всех животных в условиях *in situ* измеряли продолжительность латентного периода возбуждения передней большеберцовой мышцы в зависимости от уровня циркулирующего свободного трийодтиронина.

Ход опыта был следующим. Первоначально у ненаркотизированных животных в условиях термонейтральной зоны при температуре 28-30 °С измерялись ректальная температура (электронный термометр), величина потребления кислорода (электронный газоанализатор «Radiometer») и частота сердечных сокращений (электронный кардиотахометр). Затем животное наркотизировалось и фиксировалось в станке установки. Далее препаровался малоберцовый нерв, который в дальнейшем помещался в погружной электрод. Названный нерв иннервирует переднюю большеберцовую мышцу. Затем в переднюю большеберцовую мышцу вводились два металлических игольчатых электрода с межэлектродным расстоянием 1 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 возбуждения мышцы (**рис. 1**). Для усиления биопотенциалов мышцы применялся дифференциальный усилитель с режекторным гираторным фильтром (50 Гц), соединенный с цифровым интерфейсом (запоминающий цифровой осциллограф TDS2004C фирмы Tektronix) и компьютером.

В ходе проведения опыта первоначально измерялся латентный период возбуждения мышечного волокна при «М-ответе» при одиночных кратковременных изотонических сокращениях мышцы. В ходе проведения опыта малоберцовый нерв раздражался прямоугольными импульсами стимулятора длительностью 150 мкс частотой 4 Гц. Амплитуду импульсов электростимулятора в ходе нанесения раздражения постепенно увеличивали до тех пор, пока

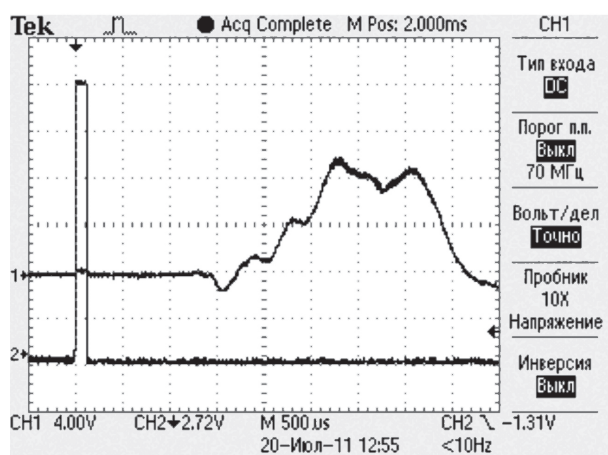
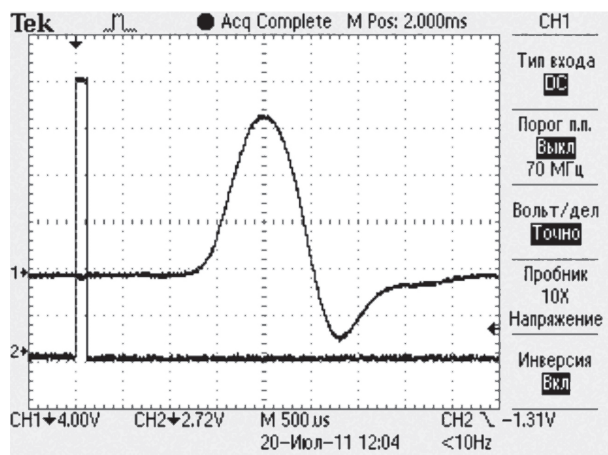


Рис. 1. Образцы записи «М-ответов» мышцы у крыс контрольной (А) и тиреотоксикозной (Б) групп. Примечание: приведены копии снимков-оригиналов с экрана осциллографа TDS2004С; на снимках изображена кривая «М-ответа» и электрический импульс электростимулятора; видно, что у крыс разных групп латентный период «М-ответа» разный.

не появлялся выраженный «М-ответ», после чего в течение 3 с производилась компьютерная запись вызванных электрических потенциалов мышцы. После измерения базовых значений исследуемых показателей животное декапитировалось, и в крови определялось содержание свободного трийодтиронина. Определение гормона проводилось с помощью метода иммуноферментного анализа с использованием системы "ThermoLabsystems" и стандартных наборов реагентов «ТиреоидИФА-трийодтиронин свободный» производства России.

Статистическая обработка осуществлялась с использованием стандартных методов матстатистики (пакеты анализа Excel и Statistica, 7).

Результаты исследований и их обсуждение.

В наших экспериментах использовался экспериментальный тиреотоксикоз, выраженность которого нами оценивалась, как тяжелая. Основанием этого служила температура тела, скорость потребления кислорода и частота сердечных сокращений. Так, ректальная температура у тиреоидизированных животных возрастала до $39,9 \pm 0,3^\circ\text{C}$ (у контроля $37,8 \pm 0,1^\circ\text{C}$), потребление кислорода увеличивалось на $10,7 \pm 0,77$ мл/кг мин (+48%, $p < 0,01$), а тахикардия достигала значения 532 ± 8 уд/мин, что было на 133 ± 10 уд/мин больше ($p < 0,01$) уровня контроля.

Результаты измерения уровня циркулирующего свободного трийодтиронина показали (табл. 1), что у крыс контрольной группы концентрация свободного трийодтиронина в плазме крови составляла $4,46 \pm 0,19$ пмоль/л, а у крыс «Т3-группы» соответственно $28,8 \pm 2,07$ пмоль/л. Следовательно, эксперименты были выполнены на животных с четкими признаками выраженного экспериментального тиреотоксикоза.

После измерения всех исследуемых показателей, характеризующих уровень основного обмена, проводилась регистрация «М-ответа» с целью определения латентного периода возбуждения мышцы (табл. 1).

Таблица 1

Значение концентрации трийодтиронина и латентного периода возбуждения мышцы у крыс контрольной и тиреоидизированной групп

Вариационный показатель	Уровень свободного трийодтиронина, пмоль/л		Значение латентного периода генерации «М-ответа», мс	
	Контроль	Тиреотоксикоз	Контроль	Тиреотоксикоз
Среднее	4,46	28,8	2,80	3,64
Стандартная ошибка	0,19	2,07	0,078	0,122
Стандартное отклонение	1,28	8,01	0,515	0,470
Дисперсия выборки	1,64	64,18	0,265	0,221
Эксцесс	0,155	-0,229	0,229	0,065
Асимметричность	0,452	0,412	-0,135	0,280
W-тест Шапиро-Уилка	$p=0,067$	$p=0,666$	$p=0,215$	$p=0,99$
Счет	43	15	43	15
F-тест для дисперсий	$F=38,9; p=1,73 \text{ E-}19$		$F=0,83; p=0,37$	

Как показали эксперименты, латентный период возбуждения переднеберцовой мышцы существенным образом зависел от тиреоидного статуса. Так, у животных контрольной группы в среднем он составлял $2,87 \pm 0,0643$ мс. При формировании состояния экспериментального тиреотоксикоза латентный период генерации «М-ответа» существенно удлинялся, и достиг значения $3,64 \pm 0,121$ мс, что было на 27% больше ($p < 0,01$) величин, зарегистрированных у контрольных животных.

Характер распределения данных в совокупностях всех вариационных рядов как у животных контрольной, так и тиреоидизированной группы, описывался нормальным законом. Об этом свидетельствует тест Шапиро-Уилка, а также значения коэффициентов асимметрии и эксцесса (табл. 1).

Представляет интерес анализ параметров вариабельности исследуемых показателей. Наиболее распространенным показателем степени вариабельности данных в вариационных рядах обычно служит дисперсия выборки, что позволяет использовать двухвыборочный F-тест для дисперсий (табл. 1). Расчеты показали, что у животных тиреоидизированной группы уровень трийодтиронина крови был более вариабельным в сравнении с таковым у контрольных крыс ($p = 1,73E-19$). Однако для показателя латентного времени генерации «М-ответа» статистически достоверные различия со стороны дисперсии отсутствовали, хотя средние величины и стандартные ошибки указывали на выраженные различия в средних величинах ($0,84 \pm 0,14$, $p < 0,01$).

Таким образом, при экспериментальном тиреотоксикозе использованной модели концентрация циркулирующего свободного трийодтиронина устанавливалась на новом, более высоком уровне, но характеризовалась крайне высоким значением вариабельности. Последнее свидетельствует, что формирование тиреотоксикоза у белых крыс при многократных инъекциях трийодтиронина в заданных дозах происходит с разной скоростью, что определяется разной индивидуальной чувствительностью животных к экзогенному трийодтирину. Тем не менее, несмотря на различия в уровне циркулирующего трийодтиронина у контрольных и тиреоидизированных

животных, у последних величина латентного периода возбуждения мышцы, во-первых, устанавливалась на более высоком уровне и, во-вторых, характеризовалась относительно невысокой степенью вариабельности данных в новой совокупности.

На следующем этапе анализа экспериментальных данных вызывает интерес выяснение характера связи между уровнем трийодтиронина и значением латентного периода генерации «М-ответа» у крыс с различным тиреоидным статусом. С этой целью были рассчитаны соответствующие регрессионные зависимости. Оказалось, что, исследуемые зависимости описывались уравнениями прямых линий при разных значениях коэффициентов (табл. 2) и располагались в разных участках диапазона концентраций трийодтиронина (рис. 2). Так, коэффициенты регрессии в уравнениях прямых линий имели разнонаправленные знаки и статистически достоверно различались ($p < 0,01$). Величины коэффициентов корреляции Пирсона в обоих уравнениях зависимости были высокими и имели разные знаки.

Объяснение полученных результатов может быть сделано с учетом имеющихся в литературе данных относительно направленности действия тиреоидных гормонов на морфологические,

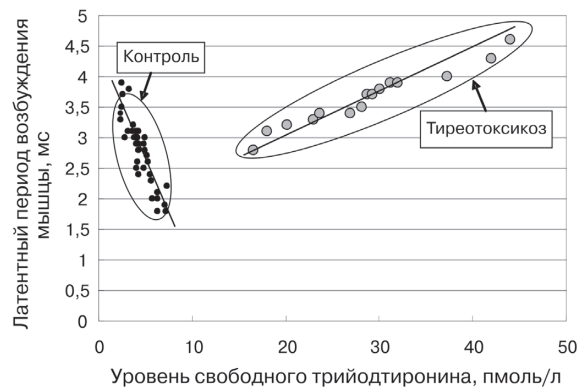


Рис.2. Зависимость латентного периода возбуждения мышцы от уровня циркулирующего трийодтиронина у крыс с различным тиреоидным статусом.

Таблица 2

Характеристика зависимостей между уровнем циркулирующего трийодтиронина (Т3) и значением латентного периода возбуждения мышцы (ЛПВМ) у крыс с различным тиреоидным статусом

Показатель	Группа животных	
	Контроль n=43	Тиреотоксикоз n=15
Вид уравнения регрессии	ЛПВМ=4,40-0,36 [Т3]	ЛПВМ=1,98+0,057 [Т3]
Значение коэффициента регрессии	-0,36±0,028	0,057±0,0033
	p=5,99 E-16	p=2,1 E-10
Величина коэффициента корреляции	-0,89±0,07	0,97±0,07
	p<0,01	p<0,01

электрофизиологические и биохимические показатели скелетной мышцы. Так, в литературе существуют сообщения в пользу позитивного влияния гипертиреоидных состояний на плотность Na^+ -каналов в плазматической мембране [10, 15] и продолжительность нахождения их в открытом состоянии в момент деполяризации мембраны мышечного волокна [13], а также на активность и концентрацию молекул Ca^{2+} -АТФазы в мембранах саркоплазматического ретикула, сродство контрактильного аппарата мышечного волокна к ионам Ca^{2+} , синтез миофибрилярных белков [7], активность АТФазы миозина, определяющей тип мышечного волокна и его скоростные характеристики [1].

В основе отмеченного нами факта удлинения латентного периода генерации «М-ответа» при тяжелой форме тиреотоксикоза может лежать, показанное в ряде публикаций явление влияния тиреоидных гормонов на продолжительность общего латентного периода и длительности моносинаптического ответа [6], а также латентного периода потенциала действия и его амплитуды при непрямом раздражении мышцы [5]. Наконец, по мнению некоторых авторов, нарушение нервно-мышечной передачи под влиянием избыточных концентраций тиреоидных гормонов в организме может возникать по причине качественных или количественных изменений в холинорецепторной системе [7], недостатка ацетилхолина в пресинаптических терминалях или затруднения его выброса [3], а также изменения активности холинэстеразы [2].

Выводы.

1. Распределение вариантов в совокупностях уровня трийодтиронина и латентного периода возбуждения мышцы у животных контрольной и тиреоидизированной группы описывается нормальным законом (тест Шапиро-Уилка и значения коэффициентов асимметрии и эксцесса).

2. При экспериментальном тиреотоксикозе использованной модели (ректальная температура $39,9 \pm 0,30\text{C}$) концентрация циркулирующего свободного трийодтиронина устанавливается на новом, более высоком уровне, и характеризуется крайне высокой степенью вариабельности.

3. Многократные инъекции трийодтиронина, вызывающие тиреотоксикоз высокой степени выраженности, ухудшают функциональные способности переднеберцовой мышцы белых крыс, что выражается в удлинении латентного периода генерации «М-ответа» (+27%).

4. Между латентным периодом генерации «М-ответа» и уровнем циркулирующего свободного трийодтиронина у крыс контрольной и тиреоидизированной групп существует выраженная связь, описываемая уравнениями прямой линии, но при разных противоположных по знаку высоких коэффициентах регрессии и корреляции Пирсона.

Перспективы дальнейших исследований связаны с последующим изучением характера изменений базовых параметров функционального состояния скелетной мышцы при нарастающей степени экспериментального тиреотоксикоза.

Список литературы

1. Валиуллин В.В. Нейротрофический контроль скелетных мышц у гипертиреоидных животных / В.В. Валиуллин // Вопросы нейробиологии. – Казань. – 1987. – Т. 68. – С. 48-53.
2. Гайдина Г.А. К характеристике состояния нервно-мышечной передачи при экспериментальном тиреоидном токсикозе / Г.А. Гайдина, Л.М. Гольбер, Г.Н. Крыжановский // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1972. – № 9. – С. 24-27.
3. Гольбер Л.М. Патогенез двигательных расстройств при тиреотоксикозе / Г.А. Гайдина, В.Я. Игнатков, М.Н. Алиев / Под ред. Л.М. Гольбера. – М.: Медицина, 1980. – 208 с.
4. Казаков В.М. Двигательная иннервация мышечных волокон при тиреотоксической миопатии / В.М. Казаков // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1991. – № 6-8. – С. 75-81.
5. Неруш П.О. Вікові особливості функціонування нервово-м'язової системи щурів за умов гіпертиреозу / П.О. Неруш, Є.А. Макій, О.Г. Родинський // Фізіол. журн. – 2001. – Т.47, №5. – С. 12-17.
6. Патогенез двигательных расстройств при тиреотоксикозе / Гольбер Л.М., Гайдина Г.А., Игнатков В.Я. / Под ред. Гольбера Л.М. – М.: Медицина, 1980. – 208с.
7. Родинський О.Г. Аналіз активності холинорецепторів скелетного м'яза в умовах експериментального гіпертиреозу / О.Г. Родинський // Одеський медичний журнал. – 2001. – Т. 68, № 6. – С. 33-35.
8. Соболев В.І. Вплив експериментального атиреозу 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.
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. Butler-Browne G.S. Myosin heavy and light chain expression during human skeletal muscle development and precocious muscle maturation induced by thyroid hormone / G.S. Butler-Browne, J.P. Barbet, L. E. Thornell // Anatomy and Embryology. – 1990. – Vol. 181, № 7. – P. 513-522.
11. Caroccia L. Effects of thyroid and parathyroid hormones on muscular activity / L.Caroccia, D.A.Williams, A.Wrighth et al. // Proc. Austral. Physiol. and Pharmacol. Soc. – 1988. – P. 19-71.
12. Connelly T.J. L-thyroxine activates the intracellular Ca^{2+} release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum / T.J. Connelly, R. Hayek, S. M. Ukhareva. // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1994. – V. 32, № 3. – P. 441-448.
13. 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.
14. muscular activity / L.Caroccia, D.A.Williams, A.Wrighth et al. // Proc. Austral. Physiol. and Pharmacol. Soc. – 1988. – P. 19-71.
15. Sampson S.R. Effects of thyroxine on transmembrane resting potentials of skeletal muscle cells in culture / S.R.Sampson, R.R.Bannett, A. Shainberg // J. Neurosci. Res. – 1982. – V. 8, № 4. – P. 595-601.

УДК 612.44 + 612.74

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАТЕНТНОГО ПЕРИОДА ГЕНЕРАЦИИ «М-ОТВЕТА» СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

Станишевская Т.И.

Резюме. В экспериментах в условиях *in situ* оказано, что в при экспериментальном тиреотоксикозе концентрация циркулирующего свободного трийодтиронина устанавливается на новом, более высоком уровне, и характеризуется крайне высокой степенью вариабельности. Установлено, что многократные инъекции трийодтиронина ухудшают функциональные способности переднеберцовой мышцы белых крыс, что выражается в удлинении латентного периода генерации «М-ответа» (+27%). Между латентным периодом генерации «М-ответа» и уровнем циркулирующего свободного трийодтиронина у крыс контрольной и тиреоидизированной групп существует выраженная связь, описываемая уравнениями прямой линии, но при разных противоположных по знаку высоких коэффициентах регрессии и корреляции Пирсона.

Ключевые слова: тиреотоксикоз, трийодтиронин, мышца, М-ответ.

УДК 612.44 + 612.74

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАТЕНТНОГО ПЕРИОДУ ГЕНЕРАЦІЇ «М-ВІДПОВІДІ» СКЕЛЕТНОГО М'ЯЗА БІЛИХ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТИРЕОТОКСИКОЗУ

Станішевська Т.І.

Резюме. В экспериментах в условиях *in situ* показано, що за експериментального тиреотоксикозу концентрація циркулюючого вільного трийодтироніну встановлюється на новому, більш високому рівні, і характеризується високим ступенем варіабельності. Встановлено, що багатократні ін'єкції трийодтироніну погіршують функціональні здібності великогомілкового м'яза білих щурів, що виражається в подовженні латентного періоду генерції «М-відповіді» (+27%). Між латентним періодом генерції «М-відповіді» і рівнем циркулюючого вільного трийодтироніну у щурів контрольної і тиреотоксикозної груп існує виразний зв'язок, описуваний рівняннями прямої лінії, але при різних протилежних за знаком високих коефіцієнтах регресії і кореляції Пірсона.

Ключові слова: тиреотоксикоз, трийодтиронін, м'яз, М-відповідь.

UDC 612.44 + 612.74

The Description Of Latent Period Of Generation Of «M-Response» Of Skeletal Muscle Of White Rats At Experimental Thyroidtoxicosis

Stanishevskaya T.I.

Summary. It has been shown, that the concentration of circulatory free triiodothyronine at experimental thyroidtoxicosis is has been set at a new, more high level, and has been characterized of high variability. It has been set, that the multiply injections of triiodothyronine worsen functional capabilities of skeletal muscle of white rats, that is expressed in lengthening of latent period of the «M-response» generation (+27%). It has been expressed communication between the latent period of the «M-response» generation and the level of free triiodothyronine at the rats of control and thyroidtoxicosis groups, which has been described by equalizations of straight line, but with different on sign of coefficients of regression and correlation.

Key words: thyroidtoxicosis, triiodothyronine, muscle, «M-response».

Стаття надійшла 16.02.2012 р.