

## ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЯЦІЇ ЛАТЕНТНОГО ПЕРІОДУ СКОРОЧЕННЯ СКЕЛЕТНОГО М'ЯЗА БІЛИХ ЩУРІВ ЗА МЕЖАМИ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ ВІЛЬНОГО ТРИЙОДТИРОНІНУ

Мелітопольський державний педагогічний університет (м. Мелітополь)

Робота виконана в Мелітопольському державному педагогічному університеті в рамках держбюджетних НІР «Роль біологічно активних речовин та їх взаємодія в регуляції фізіологічних функцій організму в нормі та при різних патологічних станах» (номер держреєстрації 0109U008621) і «Морфо-функціональні особливості організму студентів юнацького віку» (номер держреєстрації 0ШV00670).

**Вступ.** Механізми гормональної регуляції функціонального стану нервово-м'язової системи є предметом інтенсивних експериментальних досліджень [6, 3, 4]. Так, у ряді робіт показано, що за експериментального гіпертиреозу слабкого ступеню вираження полегшується процес генерації М-відповіді скелетного м'яза [4], зростає швидкість скорочення, підвищується потужність виконання зовнішньої роботи [2, 6] тощо. Проте більшість досліджень присвячена патофізіологічним механізмам дії тиреоїдних гормонів, а питання про тиреоїдну регуляцію базових показників скорочувального акту поблизу межі фізіологічного рівня трийодтироніну залишається практично мало відомими.

**Мета роботи** – з'ясувати в умовах *in situ* характер зв'язку між латентним періодом скорочення переднього великогомілкового м'яза білих щурів і рівнем циркулюючого вільного трийодтироніну за експериментального гіпертиреозу.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти були виконані на двох групах білих щурах-самцях масою  $290 \pm 2$  г. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

У тварин першої групи ( $n = 30$ ) викликали експериментальний гіпертиреоз ( $T_3$ -група) шляхом підшкірного введення трийодтироніну в дозі  $15 \text{ мкг/кг}$  протягом 4 днів (ректальна температура  $38,4 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ). Щури другої групи ( $n = 50$ , К-група) були контрольними (ректальна температура  $37,8 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ).

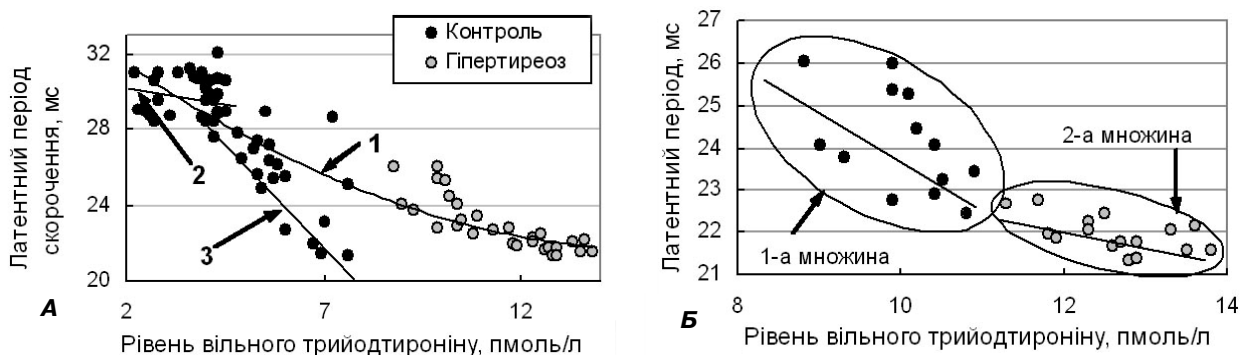
Хід досліду був наступним. Тварина наркотизувалася (тіопентал в дозі  $75 \text{ мг/кг}$ ), а потім фіксувалася у верстаті установки. Далі препарувалася маломілковий нерв. Названий нерв іннервує передній великогомілковий м'яз, скорочення якого викликає

згинання стопи задньої лапки. Стопа лапки тварини кріпилася затиском, після чого на рівні великого пальця затягувалася лігатура, сполучена з датчиком-потенціометром При електричному подразненні маломілкового нерва стопа згиналася, піднімаючи вантаж масою  $100 \text{ грамів}$ . Для роздратування нерва використовувався електростимулятор, побудований на основі функціонального генератора ICL8038CCPD, схеми оптогальванічної розв'язки і підсилювача струму. Режим подразнення нерва був таким:  $7 \text{ секунд}$  прямокутними електричними імпульсами тривалістю  $100 \text{ мкс}$  кожен при частоті  $60 \text{ імпл/с}$  і амплітуді  $300 \text{ мВ}$ . Потенціометр був ввічкнений до системи ергометричного каналу, який дозволяв у цифровому вигляді реєструвати міограмму (цифровий осцилограф Siglent SDS1062CM з пам'яттю). Надалі було можливим виміряти латентний період метричного скорочення м'яза з точністю  $0,1 \text{ мс}$ . Після виміру латентного періоду (ЛП) тваринна забивалася, і в плазмі крові визначалася концентрація вільної форми трийодтироніну ( $T_3$ ). Визначення концентрації гормону проводилося за допомогою методу імуноферментного аналізу з використанням системи фірми «ThermoLabsystems» і стандартного набору реагентів ТироїдіФА-трийодтиронін вільний (Росія).

Цифрові дані оброблялися за допомогою стандартних методів варіаційної статистики.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Результати виміру рівня циркулюючого вільного трийодтироніну показали, що у тварин К-групи його концентрація складала  $4,46 \pm 0,172 \text{ пмоль/л}$ , а у щурів  $T_3$ -групи відповідно  $11,46 \pm 0,27 \text{ пмоль/л}$  або на  $157\%$  більше.

За експериментального гіпертиреозу змінювався і латентний період скорочення м'яза. Так, якщо у щурів К-групи він складав  $28,1 \pm 0,38 \text{ мс}$ , то у тварин  $T_3$ -групи він коротшав до  $22,9 \pm 0,25 \text{ мс}$ , тобто був на  $19\%$  менше ( $p < 0,01$ ). Аналіз характеру залежності між латентним періодом і рівнем циркулюючого трийодтироніну ( $ЛП - T_3$ ) показав наступне. По-перше, об'єднана залежність для усіх груп тварин описується рівнянням параболи (**рис., А, крива 1**) з високим коефіцієнтом детермінації ( $y = 0,52x^2 - 1,6x + 34$ ,  $R^2 = 0,89$ ) і статистично вірогідних членах рівняння ( $p = 0,0073 - 2,6E-08$ ). Видно, що разом із збільшенням рівня  $T_3$  ЛП коротшає в усьому дослідженому діапазоні концентрації гормону.



**Рис. Залежність між рівнем циркулюючого трийодтироніну і латентним періодом скорочення м'яза у щурів всіх дослідних груп (А) і окремо у тварин гіпертиреїдної групи (Б).**

По-друге, цілісний варіаційний ряд значень ЛП у щурів контрольної групи методом k-середніх клас-терного аналізу може бути розділений на дві незалежні множини, розташованих в різних діапазонах шкали концентрації трийодтироніну – початку і кінці (табл., рис., А). У виділених множинах (№№ 2 і 3) залежність «ЛП –  $T_3$ » описується рівняннями прямих ліній при статистично достовірних коефіцієнтах регресії. Відмінності між 1-м і 2-м множинами у щурів контрольної групи статистично вірогідні (двохвибірко-вий F-тест для дисперсії,  $p = 0,0014$ ). Крім того, коефіцієнт регресії в другій множині значень ЛП був в 4,6 разу вище, ніж в першій ( $p < 0,01$ ). Цей факт свідчить, що в другій половині шкали концентрацій  $T_3$  при зростанні концентрації гормону величина ЛП коротшає швидшими темпами. Розрахунки показали, що в другій множині середнє значення ЛП склало  $25,2 \pm 0,27$  мс, а в першій  $29,6 \pm 0,22$  мс, або на 17% менше ( $p < 0,01$ ).

По-третє, у тварин  $T_3$ -групи мала місце така ж закономірність: цілісний варіаційний ряд значень ЛП розділявся на дві незалежні множини (рис., А, 1-а і 2-а множини), які статистично різнилися одна від одної (F-тест,  $p = 0,0029$ ). У рамках виділених множин залежність (ЛП –  $T_3$ ) описується рівняннями прямої лінії при різних коефіцієнтах регресії  $b_{xy}$  ( $p < 0,01$ ). Крім того, в діапазоні концентрацій  $T_3$  «11,3–13,8 пмоль/л» кут нахилу прямої зменшується

( $p < 0,05$ ), що свідчить про початок фази стабілізації процесу укорочення латентного періоду при зростанні концентрації гормону.

Таким чином, за межами фізіологічної норми концентрації  $T_3$  латентний період скорочення м'яза продовжує коротшати, що свідчить про розширення діапазону активної регуляції трийодтироніном високого функціонального стану скелетного м'яза, принаймні, до 13,8 пмоль/л.

У основі механізму поліпшення функціонального стану скелетного м'яза під впливом трийодтироніну лежить його здатність модулювати, передусім, збудливість м'язових волокон. Так, у численних роботах встановлено, що тиреоїдні гормони здатні чинити вплив на окремі компоненти нервово-м'язового синапсу [1,5], зокрема, щільність і мобільні характеристики  $Na^+$ -каналов, активність  $Na^+/K^+$ -АТФази плазматичної мембрани [7] і міозинової АТФази скорочувального апарату, міра спорідненості актинових ниток до іонів  $Ca^{2+}$  [9], щільність і функціональний стан  $Ca^{2+}$ -каналов мембрани саркоплазматичного ретикулуму [8] і активність його  $Ca^{2+}$ - помпи тощо. В результаті усіх цих процесів функціональний стан скелетного м'яза покращується, що ми і спостерігали на прикладі латентного періоду скорочувального акту. Крім того, процес тиреоїдної регуляції скорочувальної функції скелетного

Таблиця

**Характер залежності латентного періоду (ЛП) скорочення м'яза від рівня вільного трийодтироніну ( $T_3$ ) у різних секторах шкали концентрації гормону**

Група	Діапазон концентрації трийодтироніну і його середнє значення, пмоль/л	Латентний період, мс	Рівняння регресії і коефіцієнт регресії ( $b_{xy}$ )
К-група n = 50	2,2 – 4,9 (3,8±0,15)	29,7±0,2 n = 34	ЛП = - 0,31 [ $T_3$ ]+ 30,8 $b_{xy} = - 0,31 \pm 0,29$ , $p = 0,301$
	5,2 – 7,6 (6,0±0,20)	24,8±0,4 n = 16	ЛП = - 1,44 [ $T_3$ ]+ 34,1 $b_{xy} = - 1,44 \pm 0,62$ , $p = 0,03$
$T_3$ -група n = 30	8,8 – 10,9 (9,9±0,18)	24,2±0,3 n = 12	ЛП = - 0,97 [ $T_3$ ]+ 33,8 $b_{xy} = - 0,97 \pm 0,48$ , $p = 0,08$
	11,3 – 13,8 (12,5±0,19)	22,0±0,1 n = 18	ЛП = - 0,39 [ $T_3$ ]+ 26,9 $b_{xy} = - 0,39 \pm 0,12$ , $p = 0,007$

**Примітка:** у круглих дужках наведено середній рівень трийодтироніну у вказаному діапазоні концентрації гормону.

м'яза здійснюється і за рамками фізіологічної шкали концентрації трийодтироніну.

### Висновки.

1. На кінці шкали фізіологічної концентрації вільного трийодтироніну (5,2-7,6 пмоль/л) латентний період скорочення переднього великогомілкового м'яза білих щурів в умовах *in situ* стає на 17% коротше, ніж на її початку (2,2-4,9 пмоль/л), що дозволяє розглядати ендогенний трийодтиронін як природний ефективний регулятор скорочувальної функції скелетного м'яза.

2. За експериментального гіпертиреозу (ректальна температура  $38,4 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , рівень вільного трийодтироніну 8,8-13,8 пмоль/л) латентний період скорочення м'яза білих щурів із зростанням концентрації гормону прогресивно коротшає (до 19%), що свідчить про розширення діапазону активної регуляції трийодтироніном високого функціонального стану скелетного м'яза за межі фізіологічної норми.

**Перспективи подальших досліджень.** Буде продовжено вивчення електрофізіологічних параметрів нервово-м'язового синапсу за різного тиреоїдного статусу.

### Список літератури

1. 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. – №5. – С. 12-17.
2. Соболев В. И. Влияние гипертиреоза разной степени выраженности на энергетику изометрического сокращения скелетной мышцы (исследование *in situ*) / В. И. Соболев, Н. В. Пичурина // Вісник проблем біології і медицини. – 2008. – Вип. 2 – С. 179-185.
3. Соболев В. И. Влияние экспериментального тиреоза на энергетику изометрического сокращения м'яза білого щура (дослідження *in situ*) / В. И. Соболев, Т. В. Москалец // Фізіол. журн. – 2007. – Т. 53, №5. – С. 86-90.
4. Станішевська Т. І. Характеристика латентних періодів збудження і укорочення м'яза білих щурів залежно від рівня циркулюючого трийодтироніну / Т. І. Станішевська, В. І. Соболев // Фізіол. журн. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 68-75.
5. Станішевська Т. І. Влияние тиреоидного статуса на латентный период збудження скелетного м'яза білих щурів / Т. І. Станішевська, В. І. Соболев // Одеський медичний журнал. – 2011. – № 6 (128). – С. 4-6.
6. Труш В. В. Изменение силовых характеристик скелетной мышцы белых крыс в процессе углубления экспериментального гипертиреоза / В. В. Труш, В. И. Соболев // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2003. – Т. 12, №2. – С. 144-150.
7. 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.
8. Connelly T. J. L-thyroxine activates the intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum / T. J. Connelly, R. Hayek, M. Sukhareva [et al.] // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1994. – V. 32, № 3. – P. 441-448.
9. Davis P. J. Thyroid hormone regulation of membrane  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity / P. J. Davis, F. V. Davis // Endocr. Res. – 1989. – V. 15. – P. 651-682.

УДК 612-44+ 612.741

### ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ЛАТЕНТНОГО ПЕРИОДА СОКРАЩЕНИЯ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ БЕЛЫХ КРЫС ЗА ПРЕДЕЛАМИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ СВОБОДНОГО ТРИЙОДИРОНИНА

Станишевская Т. И.

**Резюме.** В экспериментах на переднеберцовой мышце белых крыс в условиях *in situ* установлено, что в конце шкалы физиологической концентрации свободного трийодтиронина (5,2-7,6 пмоль/л) латентный период сокращения мышцы становится на 17% короче, чем в ее начале (2,2-4,9 пмоль/л), что позволяет рассматривать эндогенный трийодтиронин как естественный эффективный регулятор сократительной функции скелетной мышцы.

При экспериментальном гипертиреозе (ректальная температура  $38,4 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , уровень свободного трийодтиронина 8,8-13,8 пмоль/л) латентный период сокращения мышцы с ростом концентрации гормона прогрессивно укорачивается (до 19%), что свидетельствует о расширении диапазона активной регуляции трийодтиронинем высокого функционального состояния скелетной мышцы за пределами физиологической нормы.

**Ключевые слова:** гипертиреоз, латентный период сокращения, трийодтиронин.

УДК 612-44+ 612.741

### ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЯЦІЇ ЛАТЕНТНОГО ПЕРІОДУ СКОРОЧЕННЯ СКЕЛЕТНОГО М'ЯЗА БІЛИХ ЩУРІВ ЗА МЕЖАМИ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ ВІЛЬНОГО ТРИЙОДТИРОНІНУ

Станішевська Т. І.

**Резюме.** В експериментах на великогомілковому м'язі білих щурів в умовах *in situ* встановлено, що на кінці шкали фізіологічної концентрації циркулюючого вільного трийодтироніну (5,2-7,6 пмоль/л) латентний період скорочення м'яза стає на 17% коротше, ніж на її початку (2,2-4,9 пмоль/л), що дозволяє розглядати ендогенний трийодтиронін як природний ефективний регулятор скоротливої функції скелетного м'яза.

За експериментального гіпертиреозу (ректальна температура  $38,4 \pm 0,1$  °C, рівень вільного трийодтироніну 8,8-13,8 пмоль/л) латентний період скорочення м'яза із зростанням концентрації гормону прогресивно коротшає (до 19%), що свідчить про розширення діапазону активної регуляції трийодтироніном високого функціонального стану скелетного м'яза за межами фізіологічної норми.

**Ключові слова:** гіпертиреоз, латентний період скорочення, трийодтиронін.

UDC 612-44+ 612.741

### Feature of Regulation of Latent Period of Muscle Contraction of White Rats Outside the Physiological Concentration of Free Triiodothyronine

Stanishevs'ka T. I.

**Summary.** In experiments it is shown, that at the end of physiological concentration of free triiodothyronine (5,2-7,6 pmoI/l) the latent period of contracting muscle becomes on 17% shorter, than in her beginning (2,2-4,9 pmoI/l). It allows to examine a triiodothyronine as natural regulator of function of skeletal muscle.

At experimental hyperthyroidism (rectal temperature of  $38,4 \pm 0,1$  °C, level of free triiodothyronine of 8,8-13,8 pmoI/l) the latent period of muscle contraction shortens (to 19%). It testifies to expansion of range of the active adjusting the triiodothyronine of the functional state of skeletal muscle after borders a physiology norm.

**Key words:** hyperthyroidism, latent period of muscle contraction, triiodothyronine.

Стаття надійшла 14.10.2012 р.

Рецензент – проф. Рибаків С. Й.