

**ВЛИЯНИЕ ТИРЕОИДИЗАЦИИ НА ХАРАКТЕР ЗАВИСИМОСТИ ТЕПЛОВОЙ
СТОИМОСТИ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ
ОТ УРОВНЯ ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО СВОБОДНОГО ТРИЙОДИРОНИНА
У БЕЛЫХ КРЫС****Мелитопольский государственный педагогический университет
имени Богдана Хмельницкого (г. Мелитополь)****stanisch@ukr.net**

Работа выполнена в Мелитопольском государственном педагогическом университете имени Богдана Хмельницкого в рамках госбюджетных НИР «Морфо-функціональні особливості організму студентів юнацького віку», Негос. реєстрації ОШВ00670.

Вступление. Физиология гормональной регуляции функционального состояния нервно-мышечной системы по-прежнему остается предметом интенсивных исследований [1, 3, 14]. В настоящее время имеются экспериментальные доказательства участия активных йодтиронинов в модуляции работы ионных насосов мышечного волокна [15, 16], процессах нервно-мышечной передачи [5, 7, 11], а также регуляции работоспособности скелетной мышцы [4, 10, 14]. Однако многие аспекты проблемы тиреоидного контроля мышечного сокращения остаются недостаточно исследованными. В частности, представляется важным вопрос о характере регуляции тиреоидными гормонами одного из важных механизмов эрготропной функции скелетной мышцы – термогенной. Несмотря на ряд исследований, выполненных в этом направлении [8, 9, 12], остался вне поля зрения такой аспект проблемы, как характер регуляции тепловой эффективности сократительного акта при состоянии выраженного тиреотоксикоза.

Целью работы явилось установление характера связи между уровнем циркулирующего свободного трийодтиронина при различном тиреоидном статусе (эутиреозе и тиреотоксикозе), с одной стороны, и тепловой стоимостью единицы внешней работы (мДж), выполненной скелетной мышцей белых крыс в условиях *in situ*, с другой.

Объект и методы исследования. Эксперименты выполнены на 80 взрослых белых крысах-самцах массой $288 \pm 1,3$ г. Все животные были разделены на две группы. Первой группе крыс (30 животных) ежедневно в течение 4 дня подкожно вводился трийодтиронин в дозе 25 мкг/кг (тиреотоксикоз, 25T₃-группа). Вторая группа крыс (50) была контрольной.

Для измерения температурного коэффициента мышечного сокращения использовалась экспериментальная установка, представленная термометрическим и эргометрическим измерительными каналами. Термометрический канал включает датчик температуры (медь-константановая термопара), фотоусилитель

Ф-116, оптронный преобразователь и многоканальный цифровой запоминающий осциллограф Tektronix (TDS2004C). Эргометрический канал включает механодатчик, усилитель постоянного тока и цифровой запоминающий осциллограф TDS2004C. Для раздражения нерва использовался электростимулятор и биполярные игольчатые стальные электроды.

В ходе опыта животное наркотизировалось (тиопентал в дозе 75 мг/кг внутривенно), а затем фиксировалось в станке установки. 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. При электрическом раздражении малоберцового нерва стопа изгибалась, поднимая груз массой 100 граммов. Для раздражения нерва использовался следующий режим: 7 секунд прямоугольными электрическими импульсами длительностью 100 мкс каждый при частоте 60 имп/с и амплитуде 300 мВ. Параллельно регистрировалась и термограмма, на основании которой измерялась величина прироста температуры мышцы при ее сокращении ($+\Delta T^\circ$). Это позволяло в дальнейшем рассчитать отношение « $+\Delta T^\circ$ » к «А» [9].

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 стандартного набора реагентов «ТироидИФА-трийодтиронин свободный» производства России. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакетов анализа Statistica и Excel. Оценка отличий между двумя множествами проводилась с помощью двухвыборочного F-теста для дисперсий.

Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів

експериментів на тваринах», утвержденных Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Результаты исследований и их обсуждение.

Результаты экспериментов показали, что у крыс опытной группы, которым предварительно вводился трийодтиронин средняя величина уровня циркулирующего свободного трийодтиронина достигала значения $17,48 \pm 0,33$ пмоль/л, что было выше контрольного уровня на +291% ($p < 0,001$). Таким образом, у животных опытной группы вызывалось состояние экспериментального тиреотоксикоза выраженной степени.

Регрессионный анализ характера связи «ТКМС – T_3 » в целостной совокупности показал, что у крыс контрольной группы он описывается уравнением параболы общего вида: $y = 0,17x^2 - 0,63x + 6,96$ при высоком значении величины достоверности аппроксимации кривой ($R^2 = 0,68$ при $p = 2,45E-06$), где «у» – концентрация трийодтиронина, пмоль/л; «х» – температурный коэффициент мышечного сокращения, ($^{\circ}C/мДж$) 10^{-3} . Значения всех коэффициентов в приведенном уравнении статистически достоверны ($p < 0,0308$).

Аналогичная процедура была проведена и в отношении целостной совокупности значений исследуемых показателей у крыс с экспериментальным тиреотоксикозом. Характер выявленной связи «ТКМС – T_3 » также описывается уравнением параболы общего вида с параметрами: $y = 0,14x^2 + 4,1x - 10,9$ при высоком значении величины достоверности аппроксимации кривой ($R = 0,88$ при $p = 1,37E-07$). Значения всех коэффициентов в приведенном уравнении статистически достоверны ($p < 0,048 + 0,017$).

Визуальный анализ графика рассеивания значений ТКМС у животных обеих групп показал (рис.), что в исследуемых вариационных рядах могут существовать отдельные независимые множества. Для их выделения был применен кластерный анализ (табл.). Действительно, в каждом отдельном вариационном ряде (у контрольных и тиреотоксикозных животных) легко выделяются, как минимум, по два кластера, представленными независимыми множествами. На рисунке эти множества окантованы овалами. Кроме

того, выделенные пары независимых множеств в целостной совокупности крыс контрольной группы (множества 1 и 2) статистически различаются (двухвыборочный F-тест для дисперсии, $p = 1,43E-07$). У животных тиреотоксикозной группы два множества (3 и 4) также статистически различаются друг от друга ($p = 0,0065$).

После выделения в целостных совокупностях «ТКМС – T_3 » у контрольных и тиреотоксикозных крыс по два независимых множества стало возможным провести оценку характера зависимости между исследуемыми показателями (ТКМС и T_3) внутри каждого из них.

Регрессионный анализ показал, что у крыс контрольной группы характер связи «ТКМС – T_3 » в первом и втором множествах описывается однотипными уравнениями прямой линии с соответствующими параметрами (табл.). Различия в величинах коэффициентов регрессии в обоих

уравнениях достигали 370% и были статистически достоверными ($p < 0,01$). На шкале концентрации T_3 (шкала «Х» на рис.) обозначенные множества занимают два разных участка. Первый участок располагается в области более низкой концентрации трийодтиронина « $2,2 \div 5,0$ пмоль/л», а второй – в диапазоне более высоких « $5,1 \div 7,6$ пмоль/л».

Физиологическое значение данного феномена заключается в том, что при эутиреоидном статусе, т. е. в условиях нормы, циркулирующий свободный трийодтиронин эндогенного происхождения выполняет роль модулятора теплообразовательной функции скелетной мышцы, в частности путем регуляции термогенной стоимости единицы выполняемой ею работы.

Целостная зависимость «ТКМС – T_3 » для крыс тиреотоксикозной группы также распадается на два множества, которые характеризуются разными коэффициентами регрессии и корреляции Пирсона ($p < 0,05$). В начальной области концентраций трийодтиронина у крыс $25T_3$ -группы (диапазон « $14,1 \div 18,2$ пмоль/л») зависимость отсутствовала, а в конечной области « $18,4 \div 21,0$ пмоль/л», была хорошо выражена. В то же время средняя величина ТКМС в начальном диапазоне концентраций T_3 (3-й кластер) была на 19% выше ($p < 0,01$), чем в конечном (4-й кластер, табл.). Следовательно, по достижении концентрации трийодтиронина определенного уровня тепловая стоимость мышечного сокращения более не растет, а, наоборот – начинает снижаться.

Представляет и интерес анализ точности регуляции величины ТКМС в разных секторах шкалы концентрации свободного трийодтиронина. Так, после достижения концентрации T_3 у крыс с эутиреоидным статусом уровня $5,0 \div 7,6$ пмоль/л величина стандартного отклонения для среднего значения температурного коэффициента мышечного сокращения в указанном диапазоне резко возросла (в 2,9 раза), что может рассматриваться как признак снижения точности регуляции. Это же явление хорошо видно на рисунке (множество № 2).

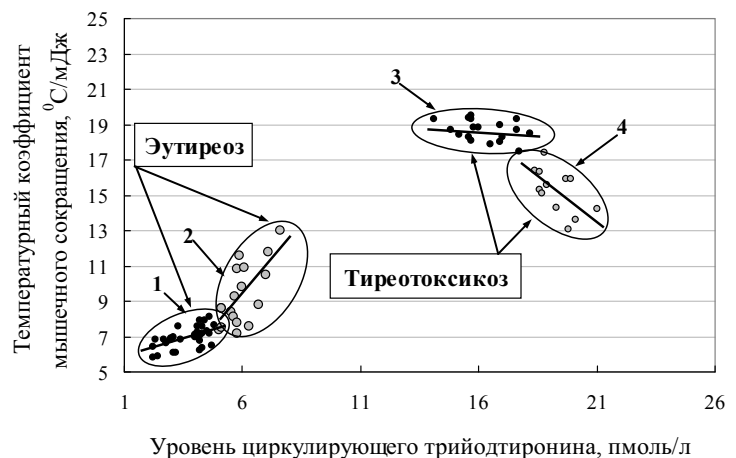


Рис. Зависимость температурного коэффициента мышечного сокращения от уровня циркулирующего свободного трийодтиронина у крыс при различном тиреоидном статусе.

Примечание: 1, 2, 3, 4 – отдельные множества из вариант целостного вариационного ряда, выделенные методом кластерного анализа.

Таблиця

Характеристика зависимости между величиной температурного коэффициента мышечного сокращения (y) и уровнем циркулирующего трийодтиронина (x) в разных диапазонах шкалы концентраций гормона

Группа	Диапазон концентрации трийодтиронина, пмоль/л	Уравнение регрессии	Коэффициент регрессии	Коэффициент корреляции Пирсона
Контроль n=50	2,2 – 4,9	$y=0,43x + 5,4$	$0,43 \pm 0,11$ $p=4,3E-04$	$0,59 \pm 0,14$ $p < 0,01, n=33$
	5,0 – 7,6	$y=1,61x - 0,27$	$1,61 \pm 0,43$ $p=1,6E-03$	$0,68 \pm 0,18$ $p < 0,01, n=17$
Тиреотоксикоз n=30	14,1 – 18,2	$y=-0,2x + 22,1$	$-0,20 \pm 0,13$ $p=0,135$	$0,37 \pm 0,24$ $p < 0,05, n=17$
	18,4 – 21,0	$y=-0,94x + 33,4$	$-0,91 \pm 0,04$ $p=0,042$	$0,59 \pm 0,28$ $p < 0,05, n=13$

При экспериментальном тиреотоксикозе наблюдалась обратная закономерность. Так, если в начале диапазона концентрации T_3 (14,1 ÷ 18,2 пмоль/л, множество №3) величина стандартного отклонения была не высокой, то в диапазоне (18,4 ÷ 21,0 пмоль/л, множество №4), наоборот – резко (в 2,2 раза) увеличивалась.

Рассматривая вероятные механизмы модуляции трийодтиронином температурной стоимости мышечного сокращения, в качестве таковых можно назвать механизмы «деградации» энергии [12, 13]. Среди них наиболее известными являются механизмы активации работы натрий-калиевого и кальциевого насосов [15, 16], механизм запуска трийодтиронином так называемых бесполезных циклов типа «гидролиз-реэстерификация жирных кислот» [13], возможно, разобщение окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи [2, 6], а также усиление эффектов эндогенных катехоламинов на ряд ключевых процессов метаболизма в мышечной ткани [4, 12]. В каждом из этих случаев скелетная мышца при выполнении стандартной единицы внешней работы (в нашем случае мДж) автоматически будет затрачивать большее количество энергии, что внешне выразится в повышении температурного коэффициента мышечной работы, что мы и наблюдали.

Таким образом, результаты экспериментов позволяют рассматривать эндогенный трийодтиронин как мощный активатор тепловой стоимости мышечного сокращения, функционирующий как в рамках всего физиологического диапазона колебаний уровня гормона, так и за пределами его верхней границы, в том числе и при состоянии выраженного экспериментального тиреотоксикоза.

Выводы.

1. В условиях эутиреоидного статуса существует выраженная ($R=0,82$) положительная связь между уровнем циркулирующего свободного трийодтиронина и величиной тепловой стоимости мышечного сокращения, рассчитанной

как отношение прироста температуры мышцы при изотоническом сокращении ($+\Delta T$ °C) к единице выполненной в условиях *in situ* внешней работы (мДж); при экспериментальном трийодтирониновом тиреотоксикозе направленность связи ($R=0,88$) инвертируется, приобретая отрицательный характер.

2. На верхней границе нормы физиологических колебаний уровня трийодтиронина «5,0 ÷ 7,1 пмоль/л» тепловая стоимость единицы работы (мДж) на 37% выше, чем в начале шкалы концентраций гормона «2,2 ÷ 4,8 пмоль/л», а при экспериментальном тиреотоксикозе, наоборот – в конечной области концентраций трийодтиронина («11,9 ÷ 13,8 пмоль/л») тепловая стоимость мышечного сокращения на 19% ниже, чем в начальном диапазоне «8,8 ÷ 11,8 пмоль/л».

3. Процесс регуляции трийодтиронином тепловой стоимости мышечного сокращения при состоянии эутиреоза и экспериментальном тиреотоксикозе, по данным показателей вариабельности, ухудшается (соответственно в 2,9 и 2,2 раза) вместе с ростом уровня циркулирующего трийодтиронина.

Перспективы дальнейших исследований связаны с последующим изучением характера связи между показателями энергетики мышечного сокращения и уровнем циркулирующих тиреоидных гормонов при различных моделях экспериментального гипертиреоза и тиреотоксикоза.

Литература

1. Болезни щитовидной железы / Ред. Л. И. Браверман. – Москва : Медицина, 2000. – 250 с.
2. Гольбер Л. М. Тиреотоксическое сердце / Л. М. Гольбер. – М. : Медицина, 1972. – 344 с.
3. Казаков В. М. Некоторые вопросы патогенеза миопатии у больных тиреотоксикозом / В. М. Казаков // Журнал невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 1989. – №7. – С. 73 – 79.
4. Короткова Т. П. Энергетика мышечного сокращения при многократной адренергической стимуляции / Т. П. Короткова // Вісник проблем біології і медицини. – 2004. – Вип. 4. – С. 141 – 145.
5. Неруш П. О. Вікові особливості функціонування нервово-м'язової системи щурів за умов гіпертиреозу / П. О. Неруш // Фізіолог. журн. – 2001. – Т. 47, №5. – С. 12-17.
6. Рачев Р. Р. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры / Р. Р. Рачев, Н. Д. Ещенко. – М. : Медицина, 1975. – 296 с.
7. Родинський О. Г. Механізми функціонування компонентів спинномозкових рефлекторних дуг за умов гіпертироксинемії / О. Г. Родинський // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2009. – Т. 9, №1. – С. 131-139.
8. Соболев В. И. Теплопродукция изолированной скелетной мышцы белой крысы при экспериментальном гипер- и гипотиреозе / В. И. Соболев // Физиол. журн. СССР. – 1978. – Т. 64, №2. – С. 177 –183.

9. Соболев В. И. Фазы мышечного термогенеза при экспериментальном гипертиреозе / В. И. Соболев, Н. Т. Лапенко // Физиол. журн. СССР. – 1986. – Т. 72, №3. – С. 381–384.
10. Соболев В. И. Влияние экспериментального гипертиреоза на энергетику изометричного сокращения м'язів білого щура (дослідження *in situ*) / В. И. Соболев, Т. В. Москалец // Физиол. журн. – 2007. – Т. 53, №5. – С. 86 – 90.
11. Станішевська Т. І. Характеристика латентних періодів збудження і укорочення м'язів білих щурів залежно від рівня циркулюючого трийодтироніну / Т. І. Станішевська, В. І. Соболев // Физиол. журн. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 68–75.
12. Султанов Ф. Ф. Гормональные механизмы температурной адаптации / Ф. Ф. Султанов, В. И. Соболев. – Ашхабад : Ылым, 1991. – 216 с.
13. Хаскин В. В. Биохимические механизмы адаптации к холоду. Физиология терморегуляции. Руководство по физиологии / В. В. Хаскин. – Л. : Наука, 1984. – С. 237-266.
14. Шлыкова С. Г. Энергетика сокращения скелетной мышцы у белых крыс в ходе развития экспериментального гипертиреоза / С. Г. Шлыкова // Вісник проблем біології і медицини. – 2006. – Вип. 3. – С. 39–45.
15. Brodie C. Characterization of thyroid hormone effects on Na-K pump and membrane potential of cultured rat skeletal myotubes / C. Brodie, S. P. Sampson // Endocrinology. – 1988. – №2. – P. 891–897.
16. Connelly T. J. L-thyroxine activates the intracellular Ca^{2+} release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum / Connelly T. J. [et. al.] // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1994. – Vol. 32, №3. – P. 441–448.

УДК 616. 441- 008. 61 + 612. 745. 1

ВПЛИВ ТИРЕОЇДИЗАЦІЇ НА ХАРАКТЕР ТЕПЛОВОЇ ВАРТОСТІ М'ЯЗОВОГО СКОРОЧЕННЯ ВІД РІВНЯ ЦИРКУЛЮЮЧОГО ВІЛЬНОГО ТРИЙОДТИРОНІНУ У БІЛИХ ЩУРІВ

Станішевська Т. І.

Резюме. В експериментах *in situ* показано, що в умовах еутиреоїдного статусу існує виражений ($R=0,82$) позитивний зв'язок між рівнем циркулюючого вільного трийодтироніну і величиною теплової вартості скорочення м'язів; за експериментального тиреотоксикозу спрямованість зв'язку ($R=0,88$) інвертується, набуваючи негативного характеру. Встановлено, що на верхній межі норми фізіологічних коливань рівня трийодтироніну «5, 0 ± 7, 1 пмоль/л» теплова вартість одиниці роботи м'язів (мДж) на 37% вища, ніж на початку шкали концентрації гормону «2, 2 ± 4, 8 пмоль/л», а за експериментального тиреотоксикозу, навпаки – в кінцевій області концентрації трийодтироніну (11, 9 ± 13, 8 пмоль/л) теплова вартість скорочення м'язів на 19% нижча, ніж в початковому діапазоні «8, 8 ± 11, 8 пмоль/л». Показано, що точність процесу регуляції трийодтироніном теплової вартості скорочення м'язів за стану еутиреозу і експериментального тиреотоксикозу, за даними показників варіабельності, погіршується разом із зростанням рівня циркулюючого трийодтироніну (відповідно в 2,9 і 2,2 рази).

Ключові слова: тиреотоксикоз, трийодтиронін, скелетний м'яз, енергетика.

УДК 616. 441- 008. 61 + 612. 745. 1

ВЛИЯНИЕ ТИРЕОИДИЗАЦИИ НА ХАРАКТЕР ЗАВИСИМОСТИ ТЕПЛОВОЙ СТОИМОСТИ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ ОТ УРОВНЯ ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО СВОБОДНОГО ТРИЙОДТИРОНИНА У БЕЛЫХ КРЫС

Станішевська Т. І.

Резюме. В експериментах *in situ* показано, що в умовах еутиреоїдного статусу існує виражена ($R=0,82$) позитивна зв'язок між рівнем циркулюючого вільного трийодтироніну і величиною теплової вартості скорочення м'язів; за експериментального тиреотоксикозу спрямованість зв'язку ($R=0,88$) інвертується, набуваючи негативного характеру. Встановлено, що на верхній межі норми фізіологічних коливань рівня трийодтироніну «5, 0 ± 7, 1 пмоль/л» теплова вартість одиниці роботи м'язів (мДж) на 37% вища, ніж на початку шкали концентрації гормону «2, 2 ± 4, 8 пмоль/л», а за експериментального тиреотоксикозу, навпаки – в кінцевій області концентрації трийодтироніну («11, 9 ± 13, 8 пмоль/л») теплова вартість скорочення м'язів на 19% нижча, ніж в початковому діапазоні «8, 8 ± 11, 8 пмоль/л». Показано, що точність процесу регуляції трийодтироніном теплової вартості скорочення м'язів за стану еутиреозу і експериментального тиреотоксикозу, за даними показників варіабельності, погіршується разом із зростанням рівня циркулюючого трийодтироніну (відповідно в 2,9 і 2,2 рази).

Ключевые слова: тиреотоксикоз, трийодтиронин, скелетная мышца, энергетика.

UDC 616. 441- 008. 61 + 612. 745. 1

Effect of Thyroiditis on the Character of Dependence of the Thermal Value of Muscle Contraction from the Level of Circulating Free Triiodothyronine in White Rats

Stanishevskaya T. I.

Abstract. At present, it is important to question the nature of the regulation of thyroid hormones of one of the important mechanisms of ergotropic function of skeletal muscle – thermogenic. Despite a number of studies carried out in this direction, the purview of such aspect of the problem, as the nature of the regulation of the thermal efficiency of the contractile act at the state of expressed thyrotoxicosis remained outside.

The aim of the work is to establish the nature of the relationship between circulating levels of free triiodothyronine at different thyroid status (euthyroidism and hyperthyroidism), on the one hand, and the thermal value of the unit of external work (mJ) made of skeletal muscle of white rats in conditions *in situ*, on the other.

The experiments were performed on 80 adult white male rats. All the animals were divided into two groups. The first group of rats (30 animals) was subcutaneously administered daily for four days at a dose of triiodothyronine – 25 mg / kg (thyrotoxicosis, 25T3 group). The second group of rats (50) was a control group. To measure the temperature

coefficient of muscle contraction the experimental setup was used presented by thermometric and ergometric measuring channels. After measuring the baseline values of the studied parameters the animals were decapitated, and the blood was determined by the content of free triiodothyronine by the method of enzyme-linked immunosorbent assay using the system "ThermoLabsystems" and a standard set of reagents "ThyroidEIA-free triiodothyronine".

Statistical data processing was performed using package of analysis Statistica and Excel.

Thus, the experimental results allow us to consider the endogenous triiodothyronine as potent activator of the thermal value of muscle contraction, functioning throughout the physiological range fluctuations in hormone levels, and within and outside its upper border, including at the state of the expressed experimental thyrotoxicosis .

In the context of euthyroid status there is a strong ($R=0,82$) positive association between the level of circulating free triiodothyronine and the magnitude of the thermal value of muscle contraction, calculated as the ratio of temperature increase of muscle during isotonic contraction ($+ \Delta T$ 0C) to a unit formed in conditions in situ of external work (mJ); in experimental triiodothyronine thyrotoxicosis, direction connection ($R=0,88$) is inverted, getting negative.

At the upper limit of normal physiological fluctuations in the level of triiodothyronine " $5,0 \div 7,1$ pmol / L" thermal value of a unit of work (mJ) is 37% higher than at the beginning of the scale of concentrations of the hormone " $2,2 \div 4,8$ pmol / L" and in experimental thyrotoxicosis vice versa – in a final concentration range of triiodothyronine (" $11,9 \div 13,8$ pmol / L") value of the thermal contraction of muscle by 19% lower than the initial range " $8,8 \div 11,8$ pmol / L. ".

The process of regulation of triiodothyronine thermal value of muscle contraction in state of euthyroidism and experimental thyrotoxicosis, according to indicators of variability, is making worse (respectively 2. 9 and 2. 2 times), together with an increase in circulating levels of triiodothyronine.

Keywords: thyrotoxicosis, triiodothyronine, skeletal muscle, energy.

Рецензент – проф. Міщенко І. В.

Стаття надійшла 02. 04. 2015 р.