

УДК: 612.745.1 + 612.44

Характер зависимости тепловой стоимости мышечного сокращения от уровня циркулирующего свободного трийодтиронина у наркотизированных белых крыс

Т.И.Станишевская

*Донецкий национальный университет (Донецк, Украина)
v.sobolev@mail.ru*

В условиях эутиреоидного статуса существует выраженная ($R=0,82$) положительная связь между уровнем циркулирующего свободного трийодтиронина и величиной тепловой стоимости сокращения мышцы белых крыс. Показано, что на верхней границе нормы колебаний уровня трийодтиронина «5,0–7,1 пмоль/л» тепловая стоимость единицы выполненной внешней работы (мДж) на 37% выше, чем в начале шкалы концентраций гормона «2,2–4,8 пмоль/л». Установлено, что процесс регуляции трийодтиронином тепловой стоимости сократительного акта в области верхней границы физиологической шкалы концентрации циркулирующего гормона осуществляется с высокой вариабельностью, но при более высокой физиологической эффективности.

Ключевые слова: энергетика мышечного сокращения, трийодтиронин.

Характер залежності теплової вартості скорочення м'яза від рівня циркулюючого вільного трийодтироніну у наркотизованих білих щурів

Т.І.Станішевська

В умовах еутиреоїдного статусу існує виражений ($R=0,82$) позитивний зв'язок між рівнем циркулюючого вільного трийодтироніну і величиною теплової вартості скорочення м'яза білих щурів. Показано, що на верхній межі норми коливань рівня трийодтироніну «5,0–7,1 пмоль/л» тепла вартість одиниці виконаної зовнішньої роботи (мДж) на 37% вища, ніж на початку шкали концентрації гормону «2,2–4,8 пмоль/л». Встановлено, що процес регуляції трийодтироніном теплової вартості скорочувального акту в області верхньої межі фізіологічної шкали концентрації циркулюючого гормону, за даними показників варіабельності, здійснюється зі зниженою точністю, але з вищою фізіологічною ефективністю.

Ключові слова: енергетика скорочення м'яза, трийодтиронін.

Character of the dependence of thermal cost of muscle contraction on the level of circulating free triiodothyronine in anesthetized white rats

T.I.Stanishevskaya

In the conditions of euthyroid status there is the expressed ($R=0.82$) positive correlation between the level of free triiodothyronine and value of thermal cost of contracting muscle of white rats. It has been shown that at the upper limit of norm of triiodothyronine level "5.0–7.1 pmol/l" thermal cost of unit of external work (Joule) 37% is higher, than at the beginning of scale of hormone concentration "2.2–4.8 pmol/l". It has been set that regulation of thermal cost of muscular contraction at the upper limit of concentration of triiodothyronine is carried out with decreased exactness.

Key words: energy of muscle contraction, triiodothyronine.

Введение

Среди многочисленных факторов гормональной природы, принимающих участие в регуляции функционального состояния нервно-мышечной системы, важное место отводится активным йодтиронинам щитовидной железы. В настоящее время интенсивно исследуются основные механизмы тиреоидной регуляции сократительной функции скелетной мышцы гомеотермов (Короткова, 2005; Неруш, 2001; Соболев, Москалец, 2007). Приводятся экспериментальные доказательства участия гормонов щитовидной железы в генерации и проведении нервного импульса в скелетной мышце (Рачев, Ещенко, 1975; Родинський, 2009), обеспечении механизма нервно-мышечной передачи возбуждения (Родинський, 2009), функционировании ионных насосов (Brodie,

Sampson, 1988; Connelly et al., 1994), а также в процессах регуляции возбудимости и сократимости мышечного волокна (Казakov, 1989; Станішевська, Соболев, 2012). Однако следует отметить, что большинство из экспериментальных исследований посвящено изучению патофизиологических эффектов тиреоидных гормонов (Гольбер, 1972; Казakov, 1989; Рачев, Ещенко, 1975; Соболев, Лапенко, 1986). В то же время остается практически не исследованным такой аспект проблемы тиреоидологии, как роль эндогенных тиреоидных гормонов в регуляции основных параметров функционального состояния скелетной мышцы в состоянии эутиреоза, в частности ее термогенной функции (Соболев, Москалец, 2007; Султанов, Соболев, 1991). Одним из подходов к решению поставленной задачи может служить метод сопоставления уровня циркулирующих тиреоидных гормонов при эутиреозе с выраженностью того или иного показателя функционального состояния скелетной мышцы.

Целью работы явилось установление характера связи между уровнем эндогенного циркулирующего свободного трийодтиронина при состоянии эутиреоза и температурной (тепловой) стоимостью единицы внешней работы (мДж), выполняемой скелетной мышцей белых крыс в условиях *in situ*.

Объекты и методы исследования

Эксперименты выполнены на 50 взрослых белых крысах-самцах массой тела 287 ± 2 г. Первоначально у ненаркотизированных животных измерялись ректальная температура (электронный термометр) и величина потребления кислорода (электронный газоанализатор «Radiometer»). Результаты показали, что средняя величина потребления кислорода у животных составила $23,7 \pm 0,23$ мл/кг мин, а значение ректальной температуры соответственно $37,8 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

Среди многочисленных подходов, используемых при изучении биоэнергетики сокращения скелетных мышц, нами был выбран метод измерения так называемого температурного коэффициента вызванного мышечного сокращения (Соболев, Лапенко, 1986). Для его измерения использовалась экспериментальная установка, представленная термометрическим и эргометрическим измерительными каналами (Соболев, Москалец, 2007; Короткова, 2005).

В ходе опыта у наркотизированного животного (тиопентал, в/б в дозе 75 мг/кг) препарировался малоберцовый нерв, который иннервирует переднюю большеберцовую мышцу. При электрическом раздражении нерва мышца сокращалась, 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 термограмма, на основании которой измерялась величина прироста температуры мышцы при ее сокращении ($+\Delta T^0$). Это позволяло в дальнейшем рассчитать отношение « $+\Delta T^0$ » к выполненной внешней работе «А». Полученное отношение и являлся показателем «температурного коэффициента мышечного сокращения» – ТКМС, отражающим тепловую стоимость единицы выполненной мышцей внешней работы (в данном случае 1 мДж).

После измерения базовых значений исследуемых показателей животное декапитировали и в крови определяли содержание свободного трийодтиронина. Определение гормона проводили с помощью метода иммуноферментного анализа с использованием системы "ThermoLabsystems" (Финляндия) и стандартного набора реагентов «ТироидИФА-трийодтиронин свободный» производства России.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакетов анализа Statistica и Excel. Определяли характер распределения совокупности (W-тест Шапиро-Уилка), рассчитывались показатели итоговой статистики; характер зависимости между исследуемыми показателями определялся на основе анализа уравнений регрессии, их коэффициентов и проведения кластерного анализа (метод k-средних). Оценку отличий между двумя множествами проводили с помощью двухвыборочного F-теста для дисперсий. Сравнение показателей и статистическую оценку различий проводили общепринятыми методами, используемыми в параметрической статистике, на основании проверки нулевой и альтернативной гипотез.

Все эксперименты проводили в соответствии с Международной конвенцией работы с животными и Законом Украины «Про захист тварин від жорстокого поводження». Подопытных животных содержали в условиях стационарного вивария, а проведение экспериментов было согласовано с Комиссией по биоэтике при Донецком национальном университете.

Результаты и обсуждение

Основные статистические показатели, характеризующие концентрацию свободной формы трийодтиронина (T_3), сведены в табл. 1. Видно, что средний уровень T_3 составил $4,47 \pm 0,18$ пмоль/л, что соответствует норме, установленной для человека ($3,95-6,8$ пмоль/л). Величины эксцесса и коэффициента асимметрии позволяют думать, что исследуемая совокупность может распределяться по закону, близкому к нормальному. Это подтверждается использованием более точного метода анализа – теста Шапиро-Уилка ($p=0,187$), т.е. нулевая гипотеза сохраняется. Необходимо обратить внимание на высокий коэффициент вариации значений уровня свободного трийодтиронина ($27,7\%$).

Таблица 1.

Некоторые показатели итоговой статистики для уровня свободного трийодтиронина плазмы крови у взрослых беспородных белых крыс-самцов

Статистический показатель	Значение показателя
Среднее значение	4,47
Стандартная ошибка	0,188
Медиана	4,3
Мода	4,2
Стандартное отклонение	1,33
Дисперсия выборки	1,77
Эксцесс	-0,70
Асимметричность	0,15
Коэффициент вариации, %	27,7
Число измерений	50

Вычисление значений температурного коэффициента мышечного сокращения (ТКМС) показало, что его средняя величина для всего вариационного ряда ($n=50$) составила $[(7,74 \pm 0,21) 10^{-3}]$ °С/мДж при стандартном отклонении 1,48, дисперсии 2,18 и коэффициенте вариации 19,1%.

После предварительной оценки показателей описательной статистики был проведен анализ характера зависимости между уровнем циркулирующего трийодтиронина и соответствующим ему значением температурного коэффициента мышечного сокращения («ТКМС– T_3 »). Подобный анализ оказался возможным благодаря параллельной регистрации составных элементов исследуемой пары. На рисунке (пунктирная линия) видно, что целостная зависимость хорошо описывается уравнением параболы общего вида: $y=0,17x^2-0,63x+6,96$ при высоком значении величины достоверности аппроксимации кривой ($R^2=0,68$, или $R=0,82$ при $p=2,45E-06$), где «у» – температурный коэффициент мышечного сокращения, (°С/мДж) 10^{-3} ; «х» – концентрация трийодтиронина, пмоль/л. Значения всех коэффициентов в приведенном уравнении статистически достоверны ($p \leq 0,0308$).

При визуальной оценке характера расположения точек на графике рассеивания обращают на себя внимание два момента. Во-первых, вероятность существования в целостном вариационном ряду, по крайней мере, двух независимых множеств и, во-вторых, разная степень рассеивания точек в левой и правой половинах зависимости «ТКМС– T_3 ».

В первом случае для выявления независимых множеств наиболее результативным подходом является использование методов кластерного и дисперсионного анализа. Действительно, методом k-средних целостная совокупность легко разделяется на два класса (табл. 2). Различия между соответствующими показателями в 1-ом и 2-ом кластерах статистически достоверны ($p < 0,05$). Существование двух независимых множеств подтверждается также результатами использования двухвыборочного F-теста для дисперсий ($p=2,38E-05$).

После выделения в целостной совокупности «ТКМС– T_3 » двух независимых множеств (на рисунке окантованы с помощью овалов) стало возможным провести оценку характера зависимости между исследуемыми показателями (ТКМС и T_3) внутри каждого из них. Регрессионный анализ показал, что характер связи «ТКМС– T_3 » в первом и втором множествах описывается однотипными уравнениями прямой линии с соответствующими параметрами:

ТКМС = $5,4 + 0,43 [T_3]$ при $b_{xy} = 0,43 \pm 0,1$ ($p = 0,00004$) и $r = 0,59 \pm 0,07$ ($p < 0,01$) – 1-ое множество;
ТКМС = $1,58 + 1,28 [T_3]$ при $b_{xy} = 1,28 \pm 0,4$ ($p = 0,0011$) и $r = 0,58 \pm 0,11$ ($p < 0,01$) – 2-ое множество.

Таблиця 2.
Зависимость величины температурного коэффициента мышечного сокращения (ТКМС) от концентрации свободного циркулирующего трийодтиронина

Показатель	Концентрация свободного трийодтиронина, пмоль/л	
	1-й кластер	2-й кластер
	3,81±0,15	6,05±0,17 (+59%) P<0,01
ТКМС, (°С/мДж) 10 ⁻³	6,97±0,10	9,53±0,35 (+37%) P<0,01
Количество измерений (крыс)	35	15

Примечание: при кластерном анализе использовался метод k-средних; в круглых скобках приведена разница (%) относительно аналогичного показателя в 1-ом кластере.

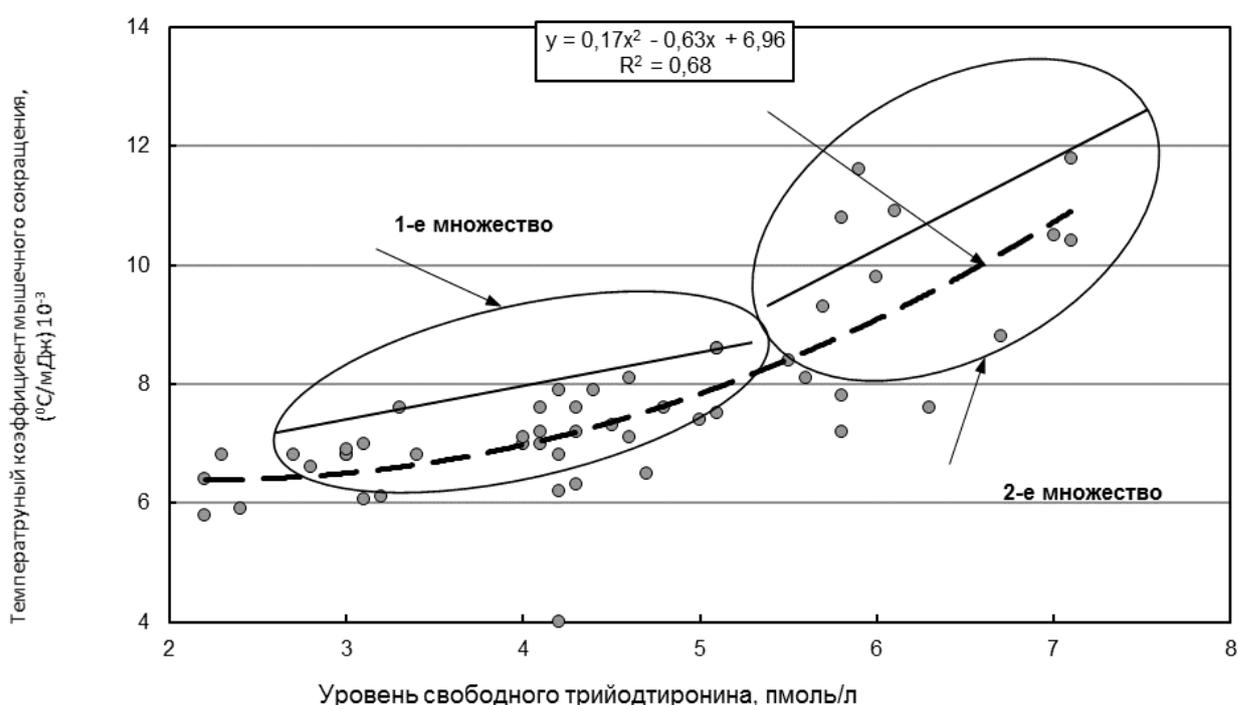


Рис. Зависимость между уровнем циркулирующего свободного трийодтиронина и величиной температурного коэффициента мышечного сокращения у белых крыс с эутиреоидным статусом (объяснение в тексте)

Различия в величинах коэффициентов регрессии в обоих уравнениях статистически достоверны (298%, p<0,01).

Таким образом, проведенный анализ показал, что на шкале концентрации Т₃ (шкала «Х» на рисунке) существуют два независимых участка, на которых зависимость «ТКМС–Т₃», хотя и носит прямолинейный характер, но характеризуется разным углом наклона прямой. Первый участок располагается в области более низкой концентрации трийодтиронина «2,2–4,8 пмоль/л», а второй – в диапазоне более высоких «5,0–7,1 пмоль/л».

Физиологический смысл данного феномена заключается в том, что циркулирующий свободный трийодтиронин эндогенного происхождения, во-первых, выступает модулятором, в нашем случае стимулятором, термогенной стоимости мышечного сокращения, и, во-вторых, «сила» регуляторного эффекта гормона в области крайней правой шкалы концентраций Т₃ стремительно нарастает.

Функциональная разнородность диапазонов концентрации эндогенного трийодтиронина характеризуется разной точностью регуляции величины температурного коэффициента мышечного сокращения в начале и конце шкалы концентраций T_3 . Одним из показателей точности регуляторного процесса является величина дисперсии и связанного с ней среднего квадратического отклонения. Так, в начальном секторе шкалы «2,2–4,8 пмоль/л» дисперсия для вариационного ряда ТКМС характеризовалась величиной 0,41 при среднем квадратическом отклонении 0,64, а в секторе концентраций T_3 «5,0–7,1 пмоль/л» соответственно 2,28 и 1,49. Статистическая достоверность различий двух дисперсий высока и согласно двухвыборочному F-тесту для дисперсии равна $p=2,8E-05$. Следовательно, процесс регуляции трийодтиронином температурного коэффициента мышечного сокращения в области крайней правой шкалы концентрации T_3 осуществляется с пониженной точностью, но заметно большей физиологической «силой». Поскольку температурный коэффициент мышечного сокращения по своей сути отражает термогенную эффективность сократительного акта (Соболев, Лапенко, 1986; Султанов, Соболев, 1991), можно сделать вывод о способности эндогенного трийодтиронина в рамках его физиологических концентраций прогрессивно увеличивать теплообразовательную функцию скелетных мышц через повышение теплового «выхода» единицы внешней работы (мДж). Факт повышения вариабельности регуляции трийодтиронином тепловой стоимости единицы выполняемой мышцей внешней работы ($+\Delta T^0/A$) при возрастании его действующей концентрации может указывать на приближение точки смены физиологического процесса регуляции на патофизиологический.

В основе регуляции трийодтиронином тепловой стоимости единицы выполненной мышцей внешней работы, по-видимому, находятся, прежде всего, механизмы деградации энергии (Султанов, Соболев, 1991; Хаскин, 1984). Среди них наиболее известными являются механизмы активации работы натрий-калиевого и кальциевого насосов (Brodie, Sampson, 1988; Connelly et al., 1994), запуск трийодтиронином так называемых бесполезных циклов типа «гидролиз-реэстерификация жирных кислот» (Хаскин, 1984), возможно, разобщение окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи (Рачев, Ещенко, 1975), а также усиление эффектов эндогенных катехоламинов на ряд ключевых процессов метаболизма в мышечной ткани (Короткова, 2005; Султанов, Соболев, 1991). 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 в рамках всего физиологического диапазона колебаний уровня гормона, а подобный эффект трийодтиронина отнести к разряду физиологических механизмов его действия.

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 ($+\Delta T^0C$) к единице выполненной в условиях *in situ* внешней работы (мДж).
2. На верхней границе нормы физиологических колебаний уровня трийодтиронина «5,0–7,1 пмоль/л» тепловая стоимость единицы выполненной мышцей внешней работы (мДж) на 37% выше, чем в начале шкалы концентраций гормона «2,2–4,8 пмоль/л».
3. Процесс регуляции трийодтиронином тепловой стоимости сократительного акта в области верхней границы физиологической шкалы концентрации циркулирующего гормона «5,0–7,1 пмоль/л» осуществляется с высокой вариабельностью, но при более высокой физиологической эффективности.

Список литературы

- Гольбер Л.М. Тиреотоксическое сердце. – М.: Медицина, 1972. – 344с. /Gol'ber L.M. Tireotoksicheskoye serdtse. – M.: Meditsina, 1972. – 344s./
- Казаков В.М. Некоторые вопросы патогенеза миопатии у больных тиреотоксикозом // Журнал невропатологии и психиатрии имени С.С.Корсакова. – 1989. – №7. – С. 73–79. /Kazakov V.M. Nekotoryye voprosy patogeneza miopatii u bol'nykh tireotoksikozom // Zhurnal nevropatologii i psikhiiatrii imeni S.S.Korsakova. – 1989. – №7. – С. 73–79./

- Короткова Т.П. Энергетика мышечного сокращения при многократной адренергической стимуляции // *Вісник проблем біології і медицини.* – 2005. – Вип.4. – С. 189–194. /Korotkova T.P. Energetika myshechnogo sokrashcheniya pri mnogokratnoy adrenergicheskoy stimulyatsii // *Visnyk problem biologii i medytsyny.* – 2005. – Vyp.4. – S. 189–194./
- Неруш П.О. Вікові особливості функціонування нервово-м'язової системи щурів за умов гіпертиреозу // *Фізіол. журн.* – 2001. – Т.47, №5. – С. 12–17. /Nerush P.O. Vikovi osoblyvosti funktsionuvannya nervovo-m'yazovoi systemy shchuriv za umov gipertyreozu // *Fiziol. zhurn.* – 2001. – T.47, №5. – S. 12–17./
- Рачев Р.Р., Ещенко Н.Д. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры. – М.: Медицина, 1975. – 296с. /Rachev R.R., Yeschenko N.D. Tireoidnyye gormony i subkletochnyye struktury. – M.: Meditsina, 1975. – 296s./
- Родинський О.Г. Механізми функціонування компонентів спинномозкових рефлексорних дуг за умов гіпертироксинемії // *Архив клинической и экспериментальной медицины.* – 2009. – Т.9, №1. – С. 131–139. /Rodyns'kyi O.G. Mekhanizmy funktsionuvannya komponentiv spinnomozkovykh reflektornykh dug za umov gipertyroksynemii // *Arkhiv klinicheskoy i eksperimental'noy medytsyny.* – 2009. – T.9, №1. – S. 131–139./
- Соболев В.И., Лапенко Н.Т. Фазы мышечного термогенеза при экспериментальном гипертиреозе // *Физиол. журн. СССР.* – 1986. – Т.72, №3. – С. 381–384. /Sobolev V.I., Lapenko N.T. Fazy myshechnogo termogeneza pri eksperimental'nom gipertireoze // *Fiziol. zhurn. SSSR.* – 1986. – T.72, №3. – S. 381–384./
- Соболев В.И., Москалец Т.В. Влияние экспериментального атиреоза на энергетику изометричного сокращения м'язу білого щура (дослідження in situ) // *Фізіолог. журн.* – 2007. – Т.53, №5. – С. 86–90. /Sobolev V.I., Moskalets' T.V. Vplyv eksperymental'nogo atyreozu na energetyku izometrychnogo skorochennya m'yaza bilogo shchura (doslidzhennya in situ) // *Fiziolog. zhurn.* – 2007. – T.53, №5. – S. 86–90./
- Станішевська Т.І., Соболев В.И. Характеристика латентних періодів збудження і укорочення м'язу білих щурів залежно від рівня циркулюючого трийодтироніну // *Фізіолог. журн.* – 2012. – Т.58, №1. – С. 68–75. /Stanishevskaya T.I., Sobolev V.I. Kharakterystyka latentnykh periodiv zbudzhennya i ukorochennya m'yaza bilykh shchuriv zalezno vid rivnya tsyrkulyuyuchogo tryiodtyroninu // *Fiziolog. zhurn.* – 2012. – T.58, №1. – S. 68–75./
- Султанов Ф.Ф., Соболев В.И. Гормональные механизмы температурной адаптации. – Ашхабад: Ылым, 1991. – 216с. /Sultanov F.F., Sobolev V.I. Gormonal'nyye mekhanizmy temperaturnoy adaptatsii. – Ashkhabad: Ylym, 1991. – 216s./
- Хаскин В.В. Биохимические механизмы адаптации к холоду. Физиология терморегуляции. Руководство по физиологии. – Л.: Наука, 1984. – С. 237–266. /Khaskin V.V. Biokhimicheskiye mekhanizmy adaptatsii k kholodu. Fiziologiya termoregulyatsii. Rukovodstvo po fiziologii. – L.: Nauka, 1984. – S. 237–266./
- Brodie C., Sampson S.P. Characterization of thyroid hormone effects on Na-K pump and membrane potential of cultured rat skeletal myotubes // *Endocrinology.* – 1988. – №2. – P. 891–897.
- Connelly T.J., el-Hayek R., Sukhareva M., Coronado R. L-thyroxine activates the intracellular Ca²⁺ release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1994. – Vol.32, №3. – P. 441–448.

Представлено: І.Г.Герасимов / Presented by: I.G.Gerasimov

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 11.07.2012