

© Родинський О. Г., Ткаченко С. С., Зінов`єва О. Г.

УДК 612. 83:612. 662. 9:618. 173-073. 7/-076-085:615. 2. 1-092. 9

Родинський О. Г., Ткаченко С. С., Зінов`єва О. Г.

ЗМІНА ЗБУДЛИВОСТІ РУХОВИХ ВОЛОКОН СІДНИЧНОГО НЕРВА БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОЕСТРОГЕНЕМІЇ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Мета дослідження – вивчення збудливості еферентних волокон сідничного нерва в умовах гіпоестрогенемії. Об'єкт – 25 білих щурів-самок, розділених на піддослідну і контрольну групи. Модель – тотальна овариоектомія. Через 120 днів реєструвалися викликані потенціали дії волокон ізольованого вентрального корінця L5 при стимуляції сідничного нерва прямокутними імпульсами. В умовах тривалої гіпоестрогенемії поріг активації волокон склав $55,32 \pm 7,69\%$, хронаксія $115,09 \pm 2,67\%$, латентний період $112,62 \pm 1,74\%$ в порівнянні з контрольною групою тварин ($p < 0,01$); при парній стимуляції спостерігалось зменшення амплітуди відповіді на тестуючий стимул на інтервалах 3 і 4 мс, що становило відповідно $61,25 \pm 36,45\%$ і $53,48 \pm 18,64\%$.

Ключові слова: естрогени, збудливість, сідничний нерв.

Дана робота є фрагментом НДР «Механізми адаптивних реакцій центральних та периферичних відділів нервової системи за нормальних та патологічних умов», № держ. реєстрації УкрІНТЕІ № 0111U002789.

Вступ. При клімаксі або в передклімактеричний період жінки часто скаржаться на м'язові болі, м'язову напругу, судоми, слабкість та втому [9]. Враховуючи модулюючий вплив естрогенів на периферичну нервову систему [7], відсутність його може внести відчутний вклад у виникнення перелічених симптомів.

Мета даного дослідження – детальний аналіз стану різних ланок рефлекторної дуги спинного мозку, зокрема її еферентної частини, шляхом аналізу викликаних потенціалів дії (ПД) вентрального корінця (ВК) за умов експериментальної менопаузи.

Матеріали і методи. Експерименти були проведені на 25 білих статевозрілих щурах-самицях лінії Вістар вагою 200-250 г, яких було розділено на 2 групи. У тварин експериментальної групи була модельована менопауза шляхом тотальної овариогістеректомії [3]. Інтактним тваринам виконували контрольне оперативне втручання. Обидві групи утримувалися у стандартних умовах віварію на стандартній дієті на протязі 120 діб, після чого тварин брали у гострий експеримент [13]. Під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) здійснювали доступ до

спинного мозку (СМ), виділяли вентральний корінець (ВК) сегменту L₅ та перетинали його біля місця входу у СМ. Сідничний нерв виділяли на стегні та перев'язували біля входу в м'яз. Відведення викликаної активності проводили від проксимальної ділянки ВК при стимуляції іпсилатерального сідничного нерва імпульсами тривалістю 0,3 мс та силою від 1 до 5 порогів (П). Аналізували поріг, хронаксію, латентний період (ЛП), амплітуду та тривалість ПД. За допомогою нанесення парних стимулів з інтервалом від 2 до 20 мс досліджували рефрактерність та лабільність нервових волокон [1]. Достовірність даних оцінювали за допомогою методів параметричної (критерій Стьюдента) та непараметричної статистики (критерій Манна-Уїтні). Зміни визнавали статистично достовірними при $p < 0,05$. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Евтаназію здійснювали за допомогою введення летальної дози тіопенталу натрію.

Результати дослідження та їх обговорення. Поріг виникнення сумарного ПД волокон ВК у тварин з експериментальною менопаузою склав $55,32 \pm 7,69\%$ у порівнянні з контрольною групою тварин ($p < 0,01$), параметри якої в цьому та подальших дослідках прийняті за 100% (Рис. 1). Хронаксія ПД ВК збільшилася на $15,09 \pm 2,67\%$ ($p < 0,01$). Латентний період, при нанесенні супрамаксимальної стимуляції (5П), збільшився на $12,62 \pm 1,74\%$, ($p < 0,01$). Загальна тривалість та амплітуда ПД ДК змін не зазнали. При нанесенні парних подразрень спостерігалось відставання відновлення амплітуди відповіді на тестуючий стимул у тварин з овариогістеректомією на інтервалах 3 та 4 мс та складало відповідно $61,25 \pm 36,45\%$ та $53,48 \pm 18,64\%$ ($p < 0,05$).

За умов ранньої хірургічної менопаузи спостерігається зниження рівня магнію в сироватці крові [12]. Це призводить до зменшення порогу збудження аксону, а отже, підвищенню збудливості нервових волокон, що і спостерігалось і у даному дослідженні

[6]. Клітинною основою цих змін є збільшення внутрішньоклітинного вмісту кальцію [10].

Зафіксоване нами збільшення ЛП викликані відповіді у тварин в експериментальній групі можна пояснити демієлінізацією нервових волокон м'якотного типу через порушення синтезу мієліну Шванівськими клітинами за умов нестачі естрогенів [11], а також деструктивними змінами аксолеми внаслідок порушення організації мікротрубочок аксонів, особливо в мієлінізованих волокнах, що негативно впливає на швидкість проведення імпульсу [13]. Крім того, естрадіол пригнічує активність клітин мікроглії, опосередують таким чином протективні механізми через зниження секреції останніми прозапальних факторів що беруть участь в прогресивному нейрональному пошкодженні [5]. Зростання часових параметрів – хронаксії та ЛП також може бути проявом порушення кровопостачання нервових стовбурів, викликаного нестачею естрогенів [2,4], та відсутністю їх нейропротекторного впливу

через зниження продукції судинного ендотеліального фактору росту в умовах гіпоксії [10].

Значне запізнення відновлення амплітуди відповіді на другий стимул у випадку подразнення нерву парними імпульсами за умов дефіциту естрогенів можна пояснити зниженням активності Na^+/K^+ -АТФази, і як наслідок, уповільненням відновлення нормального трансмембранного градієнту іонів після збудження мембрани [8].

Висновки. Таким чином, за умов раннього виникнення та тривалого існування дефіциту естрогенів спостерігається підвищення збудливості нервових волокон на фоні погіршення часових характеристик та зниження лабільності.

Перспективи подальших досліджень. Виявлені нами зміни спонукають до більш детального вивчення процесів, які проходять у вентральних корінцях СМ в умовах гіпоестрогенемії, зокрема стан синаптичної передачі та моносинаптичні реакції даної структури, що буде розглянуто у наших подальших дослідженнях.

Список літератури

1. Макій Е. А. Викликана активність аферентних та еферентних волокон сідничного нерву щурів в умовах експериментального гіпертиреозидизму / Е. А. Макій, П. О. Неруш, О. Г. Родинський, В. А. М'якушко // Нейрофізіологія. – 2002. – Т. 34, № 1. – С. 51 – 59.
2. Маличенко С. Б. Системные изменения в климактерии. Роль дефицита кальция и витамина D в формировании постменопаузального симптомокомплекса / С. Б. Маличенко, В. А. Волкова, К. К. Халидова // Современная ревматология. – 2008. – № 1. – С. 20 – 31
3. Родинський О. Г. Електрофізіологічний аналіз збудливості нервово – м'язового комплексу за умов експериментальної менопаузи / О. Г. Родинський, С. С. Ткаченко, О. В. Мозгунов // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2014. – № 3. – С. 7 – 13.
4. Федотова Ю. О. Эффекты эстрогенов в центральной нервной системе / Ю. О. Федотова, Н. С. Сапронов // Успехи физиологических наук. – 2007. – Т. 38, № 2. – С. 46 – 52.
5. Bruce – Keller A. J. Antiinflammatory effects of estrogen on microglia activation / A. J. Bruce – Keller, J. L. Keeling, J. N. Keller [et al.] // Journal of Endocrinology. – 2000. – Vol. 141. – P. 3646 – 3456.
6. Fulop T. Hypomagnesemia. Medscape Reference (formerly eMedicine) from WebMD / T. Fulop, M. Agarwal, M. Agrahankar [et al.] Updated May 16, 2013. Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/2038394-overview>.
7. Koszykowska M. Effect of steroid hormones on the peripheral nervous system / M. Koszykowska, J. Wojtkiewicz, M. Majewski, B. Jana // Journal of Animal and Feed Sciences. – 2008. – № 17. – P. 3 – 18.
8. Li Y. N – myc downstream – regulated gene 2, a novel estrogen – targeted gene, is involved in the regulation of Na^+/K^+ – ATPase / Y. Li, J. Yang [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2011. – Vol. 286. – P. 32289 – 32299.
9. Mburu D. Menopause muscle pain and muscle tension: symptoms, causes, treatments / D. Mburu // 2014 May 3. Last Modified: October 21, 2014. – Режим доступу <https://www.consumerhealthdigest.com/menopause-center/menopause-muscle-pain-and-tension.html>.
10. Ogunshola O. O. Paracrine and autocrine functions of neuronal vascular endothelial growth factor (VEGF) in the central nervous system / O. O. Ogunshola, A. Antic [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2002. – Vol. 277, №13. – P. 11410 – 11415.
11. Paul M. R. Steroid hormone signaling between schwann cells and neurons regulates the rate of myelin synthesis / M. R. Paul, J. L. Andrew, K. N. Benjamin [et al.] // Annal of the New York Academy Sciences. – 2003. – Vol. 1007. – P. 340 – 348.
12. Sreekantha Satisha T. G. . Magnesium and Calcium levels in early surgical menopause / T. G. Sreekantha Satisha, S. S. Avinash, B. K. Manjunatha Goud [et al.] // Journal of Clinical and Diagnostic Research. – 2011. – Vol. 5, № 1. – P. 55 – 57.
13. Unal D. A new hypothesis about neuronal degeneration appeared after a rat model of menopause / D. Unal, Z. Halici, Z. Altunkaynak [et al.] // Neurodegener Diseases. – 2012. – Vol. 9, № 1. – P. 25 – 30.

УДК 612.83:612.662.9:618.173-073.7/-076-085:615.2.1-092.9

ИЗМЕНЕНИЕ ВОЗБУДИМОСТИ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ВОЛОКОН СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПОЭСТРОГЕНЕМИИ

Родинский А. Г., Ткаченко С. С., Зиновьева Е. Г.

Резюме. Цель исследования – изучение возбудимости эфферентных волокон седалищного нерва в условиях гипоестрогенемии. Объект – 25 белых крыс-самок, разделенных на подопытную и контрольную группы. Модель – тотальная овариоэктомия. Через 120 дней регистрировали вызванные потенциалы

действия волокон изолированного вентрального корешка L5 при стимуляции седалищного нерва. В условиях длительной гипоэстрогемии порог активации волокон составил $55,32 \pm 7,69\%$, хронаксия $115,09 \pm 2,67\%$, латентный период $112,62 \pm 1,74\%$ по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,01$). При парной стимуляции наблюдалось уменьшение амплитуды ответа на тестирующий стимул на интервалах 3 и 4 мс, что составляло соответственно $61,25 \pm 36,45\%$ и $53,48 \pm 18,64\%$.

Ключевые слова: эстрогены, возбудимость, седалищный нерв.

UDC 612. 83:612. 662. 9:618. 173-073. 7/-076-085:615. 2. 1-092. 9

Evoked Bioelectrical Activity of Efferent Fibers of the Sciatic Nerve of White Rats in Experimental Menopause

Rodinsky A. G., Tkachenko S. S., Zinov`yeva E. G.

Abstract. The aim of our work was analysis of the bioelectrical activity of the sciatic nerve efferent fibers in experimental menopause condition. The study was performed on 25 sexually mature female Wistar rats weighing 180 – 250 g, that were divided into two groups – control ($n = 12$) and experimental ($n = 13$). In order to reproduce hypoestrogenemia, we provide ovariectomy. Medial laparotomy without ovariectomy was performed to the animals of control group for exception the impact of stress on the postoperative course of the experiment. Both groups of animals were kept in standard vivarium conditions (22 ± 2 °C, light / dark cycle was 12/12 hrs.) at a standard diet during 120 days, whereupon acute animal experiments were carried out. Sodium thiopental at a dose of 50 mg / kg was used for total anesthesia. Isolated sciatic nerve was placed on bipolar stimulating electrodes, and were submerged in vaseline oil to prevent drying. The nerve was stimulated by single square pulse with duration of 0.3 ms and amplitude of 1 to 5 thresholds. The registration of the induced action potential of the proximal portion of ventral roots with using bipolar electrodes.

Threshold, chronaxia, latency, amplitude and duration of the action potential were analysed. Refractory phenomenon was investigated by applying paired stimuli at intervals of 2 to 20 ms. Electrical stimulator, amplifier, analog-to-digital converter, PC were used. The reliability of the data was assessed using parametric methods (Student test) and nonparametric statistics (Mann-Whitney test). Changes recognized statistically significant at $p < 0.05$. All experimental procedures were performed according to the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609 / EEC), euthanasia was performed by administering a lethal dose of thiopental sodium. In the condition of long-term hypoestrogenemia appearance threshold of activate of nerve fibers decreased to $55.32 \pm 7.69\%$, chronaxy of induced potential increased to $115.09 \pm 2.67\%$, the latent period of action potential increased to $112.62 \pm 1.74\%$ compared with the control animals ($p < 0.01$). In condition of paired stimuli the amplitude of response to the testing stimulus in animals with ovariectomy at intervals 3 and 4 ms was $61.25 \pm 36.45\%$ and $53.48 \pm 18.64\%$ ($p < 0.05$) respectively.

Thus, provided early emergence and existence of long-term estrogen deficiency an increase in excitability of nerve fibers on the background of deteriorating performance and reduce time lability.

Prospects for further research. Identified changes we urge a more detailed study of the processes taking place in the ventral roots CM in terms of hypoestrogenemia particular state of synaptic transmission and monosynaptic response of the structure that will be considered in our further studies.

Keywords: oestrogen, excitability, sciatic nerve.

Стаття надійшла 27. 11. 2015 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування