

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

О.Г. Родинський,

С.С. Ткаченко,

Л.В. Гузь

ДЗ "Дніпропетровська медична академія
МОЗ України"

МОНОСИНАПТИЧНІ ВІДПОВІДІ ВЕНТРАЛЬНИХ КОРІНЦІВ СПИННОГО МОЗКУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МЕНОПАУЗИ

Ключові слова: менопауза,
моносинаптична відповідь, спинний
мозок.

Резюме. Мета даного дослідження - вивчення біоелектричної активності моторного апарату спинного мозку за умов експериментальної менопаузи. Дослідження проведені на 21 статевозрілих самицях білих щурів лінії Вістар вагою 180-240г, яких було розділено на інтактну та дослідну групи. Моделювання менопаузи проводили шляхом тотальної оваріогістеректомії. Через 120 днів реєстрували викликані потенціали дії нервових волокон ізольованого вентрального корінця L5 при стимуляції волокон ізольованого інсилатерального дорсального корінця того ж сегмента прямокутними імпульсами. Аналізували поріг (за током) виникнення відповіді, хронаксію, латентний період, амплітуду та загальну тривалість відповіді. Динаміку фаз рефрактерності оцінювали за допомогою парних стимулів (міжстимульний інтервал від 1 до 1000 мс). Показники інтактної групи прийняли за 100%. Поріг виникнення відповіді у тварин експериментальної групи становив $54,17 \pm 19,8\%$ ($p < 0,05$), хронаксія - $107,24 \pm 1,38\%$, ($p < 0,05$), латентний період $85,39 \pm 2,63\%$ ($p < 0,05$); тривалість ПД збільшувалася до $108,13 \pm 2,26\%$ ($p = 0,05$); амплітуда ПД збільшувалася до $127,59 \pm 3,78\%$ ($p < 0,01$). При нанесенні парних подразнень з різними часовими інтервалами виявлено, що на проміжку 2-100 мс у тварин з естрогенною недостатністю спостерігається запізнення відновлення амплітуди відповіді на тестуючий стимул у порівнянні з інтактними щурами. Таким чином, за умов експериментальної менопаузи спостерігається підвищення збудливості моторного апарату спинного мозку, полегшення синаптичної передачі на фоні поглиблення пресинаптичного спинального гальмування.

Вступ

При клімаксі або в передклімактеричний період жінки часто скаржаться на м'язову напругу, судоми, слабкість, втому тощо [1,13]. Модулюючий вплив жіночих статевих гормонів на центральну та периферичну нервову систему вносить значний вклад у виникнення вищеперелічених симптомів [6,10].

У літературі мало уваги приділяють розвитку нейромоторних розладів в умовах хірургічної менопаузи [1,6,10], тож дана проблема є маловивченою та актуальною.

Мета дослідження

Вивчити біоелектричну активність моторного апарату спинного мозку за умов експериментальної хірургічної менопаузи через 4 місяці від початку її моделювання.

Матеріал та методи

© О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко, Л.В. Гузь, 2015

Дослідження проведені на молодих статевозрілих самицях білих щурів лінії Вістар вагою 180-240 г у кількості 21, яких було розділено на дві групи: інтактні тварини ($n=11$) та тварини з експериментальною хірургічною менопаузою ($n=10$).

Моделювання менопаузи проводили шляхом хірургічного видалення матки та яєчників через серединний лапаротомічний доступ під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг інтраперитонеально) [5]. Тваринам з контрольної групи виконували лапаротомію (без оваріогістеректомії) з метою виключення впливу постопераційного стресу на хід експерименту. Через 120 днів утримання у стандартних умовах віварію тварин брали в гострий експеримент [16]. Під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг інтраперитонеально) проводили ламінектомію. Після цього проводили розтин твердої мозкової оболонки, перетин спинного мозку (СП) на рівні Th12 - L1 та виділяли дорсальні

та вентральні корінці сегмента L5, які перетинали біля входу в міжхребцеві отвори, після чого заливали спинний мозок теплою вазеліною олією. Через 3 години починали реєстрацію викликаної біоелектричної активності СМ. Для цього подразнюючі електроди розташовували на проксимальному відрізку дорсального корінця СМ, відведення проводили від проксимального відрізка вентрального корінця. Для подразнення використовували прямокутні імпульси силою від 1 до 2 порогів (П). З метою аналізу динаміки збудливості застосовували подразники зростаючої інтенсивності (від 1,1 до 2 П). Динаміку фаз рефрактерності оцінювали за допомогою парних стимулів (міжстимульний інтервал від 1 до 1000 мс) [4].

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою визначення середнього (М), помилки середнього (m), показників наочності (%). Вірогідність даних оцінювали за допомогою розрахунку критерія Стюдента та критерія Манна-Уїтні. Дані вважали достовірними при $p < 0,05$.

Всі дослід з тваринами проводили з ураху-

ванням норм біомедичної етики. Евтаназію після закінчення експерименту здійснювали за допомогою введення летальної дози тіопенталу натрію.

Обговорення результатів дослідження

Показники інтактної групи тварин приймали за 100%, а дані групи тварин з експериментальною менопаузою розраховували за відношенням до інтактних.

При дослідженні параметрів збудливості встановлено, що поріг виникнення відповіді у тварин експериментальної групи суттєво знижувався до $54,17 \pm 19,8\%$ ($p < 0,05$), хронаксія збільшувалася до $107,24 \pm 1,38\%$, ($p < 0,05$) (Рис.1).

Дослідження амплітудно-часових характеристик викликаних потенціалів дій (ПД) виявило наступні зміни: латентний період викликаної відповіді зменшувався до $85,39 \pm 2,63\%$ ($p < 0,05$); тривалість ПД збільшувалася до $108,13 \pm 2,26\%$ ($p = 0,05$); амплітуда ПД збільшувалася до $127,59 \pm 3,78\%$ ($p < 0,01$) (Рис.2).

Аналіз динаміки збудливості при нанесенні

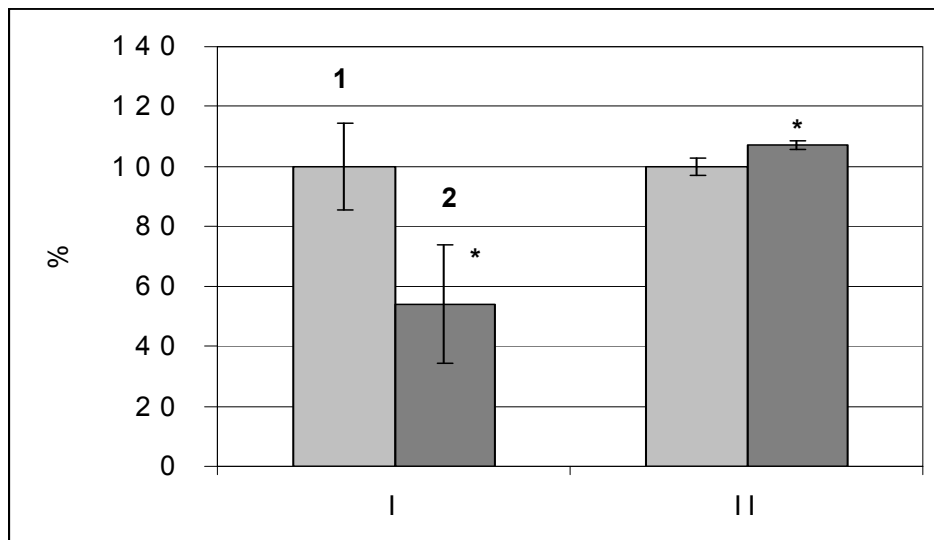


Рис. 1. Параметри збудливості МР ВК: I - поріг, II - хронаксія. 1 - інтактні тварини, 2 - тварини с експериментальною менопаузою. * - $p < 0,05$

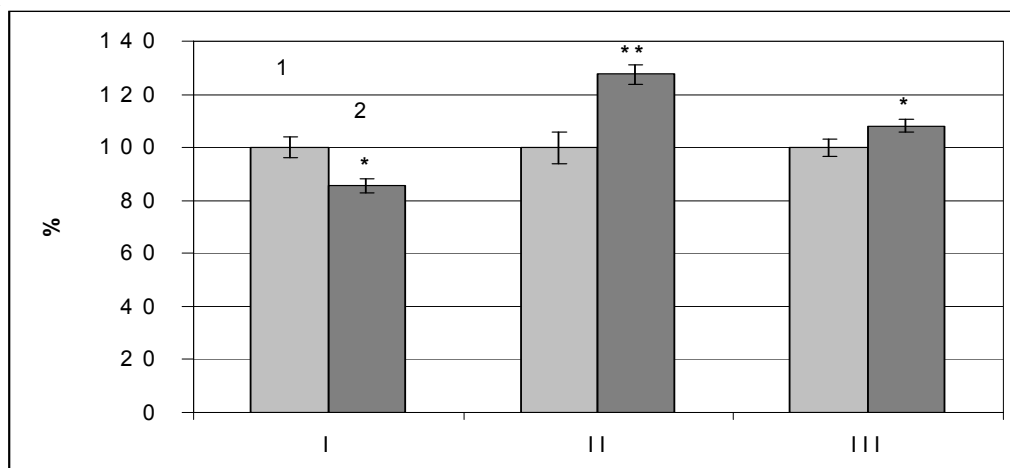


Рис.2. Середні значення латентного періоду (I), амплітуди (II) та тривалості (III) викликаного потенціалу дії у інтактних тварин (1) та тварин з експериментальною менопаузою (2). * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$

стимулів зростаючої інтенсивності змін не виявив (табл. 1).

При аналізі динаміки відновлення амплітуди другого ПД при нанесенні парних подразнень із різними часовими інтервалами виявлено, що в інтактних тварин при інтервалі між стимулами 2-5 мс амплітуда другого ПД перевищувала амплітуду першого з максимумом на 2 мс ($177,09 \pm 7,17\%$). На проміжку 3-30 мс спостерігається поступове зменшення цього показника до $25,44 \pm 2,93\%$ при інтервалі 30 мс із наступним його поступовим відновленням. У тварин з експериментальної групи динамічна крива має такий самий профіль, однак зростання амплітуди відбувається більш повільно і сягає максимуму при

інтервалі 4 мс, але становить лише $134,87 \pm 2,9\%$ ($p < 0,05$). Пригнічення на проміжку 5-30 мс має більш виражений характер і при інтервалі 30 мс складає лише $4,40 \pm 0,29\%$ ($p < 0,001$) від амплітуди першого ПД. Починаючи з 100 мс і по 1000 мс включно обидва графіки майже збігаються (рис. 3).

Виявлене нами зменшення порогу виникнення МР ВК у тварин експериментальної групи обумовлено підвищенням збудливості дорсальних корінців, про що свідчать наші попередні дослідження, і насамперед може бути пов'язане зі зрушенням потенціалу залежності активації натрієвих каналів мембрани таким чином, що для досягнення порогу і генерації натрієвого струму нор-

Таблиця 1

Абсолютні значення параметрів збудливості та амплітудно-часові характеристики викликаних потенціалів дії

Параметр Група	Порог, мА	Хронаксія, мс	Латентний період, мс	Амплітуда, мВ	Тривалість, мс
Контроль	$0,0024 \pm 0,00035$	$90,91 \pm 2,59$	$0,89 \pm 0,035$	$1,45 \pm 0,086$	$1,23 \pm 0,04$
Експериментальна менопауза	$0,0013 \pm 0,00026$ $p=0,019$	$97,5 \pm 1,35$ $p=0,04$	$0,76 \pm 0,02$ $p=0,013$	$1,85 \pm 0,07$ $p=0,002$	$1,33 \pm 0,03$ $p=0,053$

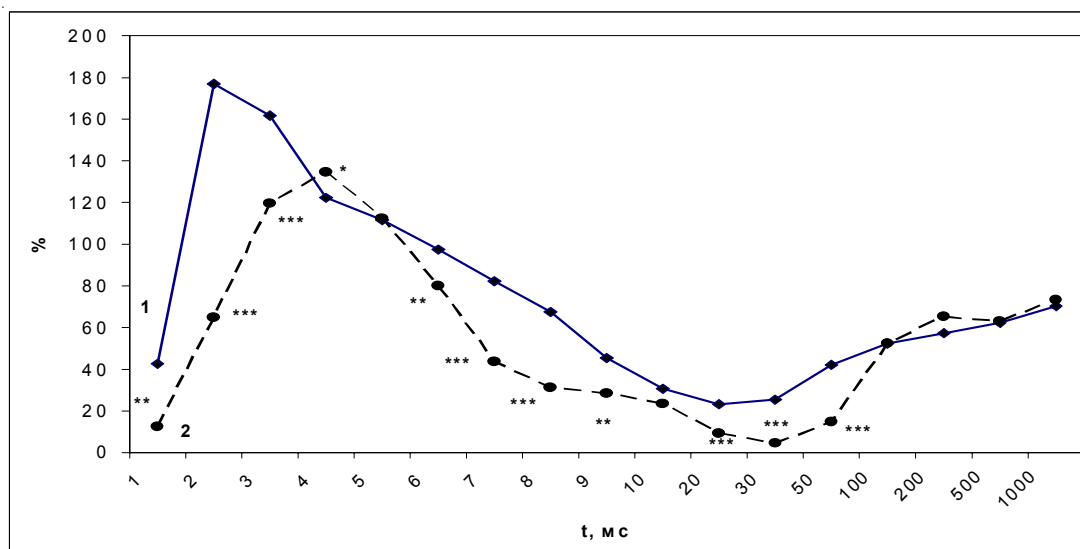


Рис. 3. Динаміка відновлення амплітуди другого ПД при нанесенні парних стимулів з різним інтервалом. 1-інтактні тварини, 2 - тварини з експериментальною менопаузою. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, * - $p < 0,001$**

мальної величини потрібні менші рівні деполяризації [9]. Причиною цього може бути зниження рівня кальцію у крові, а отже й у міжклітинній рідині, обумовлене погіршенням його всмоктування у кишківнику через порушення естроген-пов'язаної активації 25(ОН)2-1- α -гідроксилази, необхідної для створення активного метаболіту вітаміну D, та зниженням реабсорбції в нирках через дефіцит естрогенів після оваріоектомії [14,15].

Також відомо, що відсутність тонічного впливу естрогенів за умов експериментальної менопаузи може призводити до підвищення концентрації іонів кальцію в нейронах гангліїв дорсальних корінців, оскільки 17 β -естрадіол тонічно інгібує АТФ-індуковане збільшення концентрації внутрішньоклітинного кальцію через модуляцію експресії рецептора P2X3, та блокуючи L-тип потенціал-залежних кальцієвих каналів. Це може пояснити зменшення латентного періоду викликаного МР

ВК у тварин з оваріоектомією за рахунок вкорочення його синаптичного компоненту, оскільки збільшення концентрації кальцію в цитоплазмі пресинаптичного закінчення пришвидшує вивільнення медіатора [8,12].

На фоні зменшення концентрації іонів кальцію в міжклітинному просторі [14] це може призводити до зрушення електричного заряду мембрани в бік деполяризації [9], наслідком чого є підвищення збудливості, що було зафіксовано нами у вигляді зниження порогу виникнення МР ВК (рис.1).

Внутрішньоклітинний кальцій, у свою чергу, з'єднавшись з кальмодуліном, активує залежні від нього кінази (протеїнкіназа С, тирозинкіназа, кальцій/кальмодулінкіназа), котрі стимулюють синтез ретроградного месенджера (NO), який додатково підсилює викид медіатора глутамату з пресинаптичного закінчення [3]. Саме цим можна пояснити достовірне збільшення амплітуди МР ВК, зареєстрованого на волокнах вентрального корінця.

Значне запізнення відновлення амплітуди відповіді на другий стимул у випадку подразнення нерва парними імпульсами за умов дефіциту естрогенів можна пояснити зниженням активності Na^+/K^+ -АТФази, і як наслідок, уповільненням відновлення нормального трансмембранного градієнта іонів після збудження мембрани [11].

Ще однією причиною зниження амплітуди другого ПД є гомосинаптична депресія, пов'язана з виснаженням запасів нейромедіаторів у пресинаптичних терміналях та десенситизацією постсинаптичних мембран [7]. Оскільки агоністи рецепторів естрогенів потенціюють аксонний транспорт через активацію альтернативного негеномного сигнального шляху, який реалізується за рахунок активації ERK-залежного внутрішньоклітинного сигнального каскаду [2], дефіцит естрогенів може призводити до порушення аксонного транспорту [16], і, як наслідок, поповнення пулу медіатора в пресинаптичних закінченнях, що відобразиться в посиленні гомосинаптичної депресії в експериментальній групі [7].

Також у наших попередніх дослідженнях спостерігалися ознаки поглиблення пресинаптичного гальмування за умов гіпоестрогенемії [5], що може сприяти зменшенню сегментарної моторної еферентації, а отже і зменшенню амплітуди другого викликаного ПД.

Висновки

Нами виявлено, що за умов експериментальної хірургічної менопаузи спостерігається підвищення збудливості моторного апарату спин-

ного мозку, що проявляється в зниженні порогу виникнення МР ВК у відповідь на стимуляцію дорсального корінця СМ та збільшенні амплітуди ПД. Відбувається полегшення синаптичної передачі, що підтверджується зменшенням латентного періоду виникнення МР ВК, ймовірно, за рахунок саме синаптичного компоненту. Гіпоестрогенемія викликає зміни тривалості фаз рефрактерності, порушення аксонного транспорту та поглиблення пресинаптичного спинального гальмування, що відображується в затримці відновлення амплітуди другого ПД у відповідь на парну стимуляцію.

Перспективи подальших досліджень

Буде продовжено дослідження в наміченому науковому напрямку.

Література. 1. Доброхотова Ю.Е. Менопаузальный синдром / Лечебное дело. - 2004. - №1. - С. 3-8. 2. Исламов Р.Р. Синтез белка в аксоне: Обзор [Текст] / Р.Р. Исламов, А.К. Мурашов, Ю.А. Челышев // Морфология. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии : Научно-теоретический медицинский журнал. - 2005. - Том128, №6. - С. 70-76. 3. Кукушкин М.Л. Патолофизиологические механизмы болевых синдромов / М.Л. Кукушкин // Боль. - 2003. - Т.1, №1. - С. 5-12. 4. Родинський О.Г. Збудження та гальмування в моносинаптичних рефлекторних дугах білих шурів за умов спинальної суперрефлексії / О.Г. Родинський // Фізіол. журн. - 2006. - Т. 52, № 1. - С. 94-100. 5. Родинський О.Г. Біоелектрична активність інтернейронів спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи / Родинський О.Г., Ткаченко С.С. // Фізіологічний журнал. - 2015. - Т. 61, № 5. - С. 28-34. 6. Федотова Ю.О. Эффекты эстрогенов в центральной нервной системе / Федотова Ю.О., Сапронов Н.С. // Успехи физиологических наук. - 2007. - Т. 38. - № 2. - С. 46-52. 7. Capek R., Esplin B. Homosynaptic depression and transmitter turnover in spinal monosynaptic pathway / Capek R., Esplin B. // J.Physiol. - 1977. - Vol.40, №1. - P. 95-105. 8. Chaban V.V. Estrogen receptor-? mediates estradiol attenuation of ATP-induced Ca^{2+} signaling in mouse dorsal root ganglion neurons / Chaban V.V., Micevych P.E. // Journal of Neuroscience Research. - 2005. - Vol. 81, №1. - P. 31-37. 9. Hille B. Ionic channels of excitable membranes. Sunderland, Mass., Sinauer Assoc., 1984. 10. Koszykowska M. Effect of steroid hormones on the peripheral nervous system / Koszykowska M., Wojtkiewicz J, Majewski M, Jana B. // Journal of Animal and Feed Sciences. - 2008. - № 17. - P. 3-18. 11. Li Y. N-myc downstream-regulated gene 2, a novel estrogen-targeted gene, is involved in the regulation of Na^+/K^+ -ATPase / Li Y., Yang J. et al. // Journal of Biological Chemistry. - 2011. - Vol. 286. - P. 32289-32299. 12. Ma B. Modulatory effect of estradiol on P2X3 receptors expression in dorsal root ganglion of female rats / Ma B., He P., Cong B-H., Han H., Gao L., Wang L-G., Ni X. // J FASEB. - 2007. - Vol. 21. - P. 911-7. 13. Mburu D. Menopause muscle pain and muscle tension: symptoms, causes, treatments. 2014 May 3. Last Modified: October 21, 2014 <https://www.consumerhealthdigest.com/menopause-center/menopause-muscle-pain-and-tension.html>. 14. O'Loughlin PD. Oestrogen deficiency impairs intestinal calcium absorption in the rat \ O'Loughlin PD, Morris HA. // J Physiol. - 1998. - Vol. 511, № 1. - P. 313-322. 15. Sreekantha Satisha T.G.. Magnesium and Calcium levels in early surgical menopause / Sreekantha Satisha T.G., Avinash S.S., Manjunatha Goud B.K., Remya Sudhakar G.K., et al. // Journal of Clinical and Diagnostic Research. - 2011. - Vol. 5, №1. - P. 55-57. 16. Unal D. A new hypothesis about neuronal degeneration appeared after a rat model of menopause / Unal D., Halici Z., Altunkaynak Z., Keles O.N., Oral E., Unal B. // Neurodegenerative Diseases. - 2012. - Vol. 9, № 1. - P. 25-30.

**МОНОСИНАПТИЧЕСКИЕ ОТВЕТЫ ВЕНТРАЛЬНЫХ
КОРЕШКОВ СПИННОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕНОПАУЗЫ***А.Г. Родинский, С.С. Ткаченко, Л.В. Гузь*

Резюме. Цель данного исследования - изучение биоэлектрической активности моторного аппарата спинного мозга в условиях экспериментальной менопаузы. Исследования проведены на 21 половозрелых самках белых крыс линии Вистар весом 180-240г, которые были разделены на интактную и подопытную группы. Моделирование менопаузы проводили путем тотальной овариогистерэктомии. Через 120 суток регистрировали вызванные потенциалы действия нервных волокон изолированного вентрального корешка L5 при стимуляции волокон изолированного ипсилатерального дорсального корешка того же сегмента прямоугольными импульсами. Анализировали порог (по току) возникновения ответов, хронаксию, латентный период, амплитуду и общую продолжительность ответа. Динамику фаз рефрактерности оценивали с помощью парных стимулов (мижстимульный интервал от 1 до 1000 мс). Показатели интактной группы приняли за 100%. Порог возникновения ответов у животных экспериментальной группы составил $54,17 \pm 19,8\%$ ($p < 0,05$), хронаксия - $107,24 \pm 1,38\%$ ($p < 0,05$), латентный период $85,39 \pm 2,63\%$ ($p < 0,05$) продолжительность ответа увеличивалась до $108,13 \pm 2,26\%$ ($p = 0,05$); амплитуда увеличивалась до $127,59 \pm 3,78\%$ ($p < 0,01$). При нанесении парных раздражений с различными временными интервалами выявлено, что на промежутке 2-100 мс у животных с эстрогенной недостаточностью наблюдается отставание восстановления амплитуды ответа на тестирующий стимул по сравнению с интактными крысами. Таким образом, в условиях экспериментальной менопаузы наблюдается повышение возбудимости моторного аппарата спинного мозга, облегчение синаптической передачи на фоне углубления пресинаптического спинального торможения.

Ключевые слова: менопауза, моносинаптический ответ, спинной мозг.

**MONOSYNAPTICALLY ANSWERS VENTRAL SPINAL
ROOTS IN EXPERIMENTAL MENOPAUSE***A.G. Rodinsky, S.S. Tkachenko, L.V. Guz*

Abstract. The aim of this study was the analysis of bioelectrical activity of the motor apparatus of the spinal cord in experimental menopause. Experiments were performed on 21 female white rats, divided into experimental and control groups. Menopause is modeled by total ovariectomy. After 120 days we had recorded action potentials of isolated ventral root L5 fibers, induced by stimulation of isolated dorsal root by rectangular pulses. Threshold, chronaxia, latency, amplitude and duration of the action potential were analysed. The dynamics of the refractory phases was evaluated by paired stimuli (intervals from 1 to 1000 ms). Parameters of intact group took over 100%. The threshold of the responses in the animals of the experimental group was $54,17 \pm 19,8\%$ ($p < 0,05$), chronaxy - $107,24 \pm 1,38\%$ ($p < 0,05$), the latent period - $85,39 \pm 2,63\%$ ($p < 0,05$), duration of response was increased to $108,13 \pm 2,26\%$ ($p = 0,05$); amplitude increased to $127,59 \pm 3,78\%$ ($p < 0,01$). When applying the paired stimuli at various time intervals it has been showed that the lack of recovery amplitude response to the test stimulus compared with intact rats was observed in animals with estrogen deficiency at the interval of 2-100 ms. Thus, under conditions of experimental menopause increase in the excitability of spinal cord motor apparatus, facilitation of synaptic transmission recess against a background of presynaptic spinal inhibition were observed.

Key words: menopause, monosynaptically answer, spinal cord.

**SE "Dnipropetrovsk medical academy Ministry of Health
of Ukraine"**

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №4 (54). - P.128-132.

Надійшла до редакції 16.11.2015

Рецензент – проф. С.С. Ткачук

© О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко, Л.В. Гузь, 2015