

УДК 616.833.5:612.662.9-092.9-073.7:612.813

**О.Г. Родинський,
С.С. Ткаченко,
Л.В. Гузь**

ВИКЛИКАНА БІОЕЛЕКТРИЧНА АКТИВНІСТЬ ЕФЕРЕНТНИХ ВОЛОКОН СІДНИЧНОГО НЕРВА БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МЕНОПАУЗИ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра фізіології
(зав. – д. мед. н., проф. О.Г. Родинський)
вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»
Department of physiology
Dzerzhinsky str., 9, Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine
e-mail: tkachenkoss@i.ua

Ключові слова: експериментальна менопауза, електрофізіологічні дослідження, вентральні корінці
Key words: experimental menopause, electrophysiological studies, ventral roots

Реферат. Вызванная биоэлектрическая активность эфферентных волокон седалищного нерва белых крыс в условиях экспериментальной менопаузы. Родинский А.Г., Ткаченко С.С., Гузь Л.В. Целью исследования было изучение биоэлектрической активности эфферентных волокон седалищного нерва в условиях экспериментальной менопаузы. Эксперименты были проведены на 25 белых крысах-самках, разделенных на подопытную и контрольную группы. Менопауза моделировалась путем тотальной овариогистерэктомии. Через 120 дней после начала моделирования регистрировали вызванные потенциалы действия волокон изолированного вентрального корешка L5 при стимуляции ипсилатерального седалищного нерва прямоугольными импульсами. Анализировали порог, хронаксию, латентный период, амплитуду и длительность потенциала действия (ПД). Явление рефрактерности исследовали с помощью нанесения парных стимулов с интервалом от 2 до 20 мс. В условиях длительной гипострогенемии порог возникновения ПД 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 нанесении парных раздражений наблюдалось отставание восстановления амплитуды ответа на тестирующий стимул у животных с овариогистерэктомией на интервалах 3 и 4 мс и составляло соответственно $61,25 \pm 36,45\%$ и $53,48 \pm 18,64\%$ ($p < 0,05$).

Abstract. Evoked bioelectrical activity of efferent fibers of the sciatic nerve of white rats in experimental menopause. Rodinsky A.G., Tkachenko S.S., Guz L.V. The aim of our work was analysis of the bioelectrical activity of efferent fibers of the sciatic nerve in experimental menopause condition. Experiments were performed on 25 female white rats, divided into experimental and control groups. Menopause was modeled by total ovariectomy. In 120 days after modeling we had recorded evoked action potentials of fibers of isolated ventral root L5 induced by stimulation of sciatic nerve with rectangular pulses. Threshold, chronaxia, latency, amplitude and duration of the action potential (AP) were analysed. Refractory phenomenon was investigated by applying paired stimuli at intervals of 2 to 20 ms. In the context of long-term hypoestrogenemy threshold of AP appearance was $55,32 \pm 7,69\%$, chronaxia – $115,09 \pm 2,67\%$, latent period – $112,62 \pm 1,74\%$ as compared with the control animals ($p < 0.01$). In conditions of paired stimuli applying 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.

При клімаксі або в передклімактеричний період жінки часто скаржаться на м'язові болі, м'язову напругу, судоми, слабкість та втому [12]. Враховуючи модулюючий вплив естрогенів на периферичну нервову систему [8], відсутність його може зробити відчутний внесок у виникнення перелічених симптомів. У наших попередніх дослідженнях [3] було встановлено, що в умовах гіпоестрогенемії суттєво підвищується збудливість нервово-м'язового комплексу: поріг виникнення потенціалу дії литкового м'язу зменшився як при прямому, так і непрямому

подразненні на фоні збільшення часових параметрів (хронаксія, латентний період). Нез'ясованими залишаються питання щодо ролі ефферентних волокон, стан яких може впливати на вищевказані параметри. Метою цього дослідження було більш детально проаналізувати стан ефферентної ланки рефлекторної дуги СМ шляхом аналізу викликаних потенціалів дії (ПД) вентрального корінця (ВК) за умов експериментальної менопаузи через 4 місяці від початку моделювання.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ЇХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експерименти були проведені на 25 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар вагою 200-250 г, яких було розділено на 2 групи (11 інтактних тварин та 14 тварин з експериментальною менопаузою). Менопауза була модельована шляхом тотальної овариогістеректомії [3]. Тваринам контрольної групи виконували серединну лапаротомію без видалення матки та яєчників для виключення впливу постопераційного стресу на результати дослідження. Обидві групи тварин утримувалися у стандартних умовах віварію ($t^{\circ} 22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, світлий/темний цикл – 12/12 год.) на стандартній дієті протягом 120 діб, після чого тварин брали в гострий експеримент [5]. Під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) проводили розтин м'яких тканин та ламінектомію, скляним гачком розтинали тверду мозкову оболонку, виділяли вентральний корінець (ВК) сегмента L₅ спинного мозку (СМ) та перетинали його біля місця входу в 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). Подальше збільшення інтенсивності подразнення не викликало підвищення амплітуди відповіді. Аналізували такі параметри ПД ВК: поріг, хронаксія, латентний період (ЛП), амплітуда та тривалість ПД. Аналіз динаміки збудливості проводили

шляхом нанесення на сідничний нерв стимулів зростаючої інтенсивності (від 1,1 П до 2 П), а також досліджували явище рефрактерності за допомогою нанесення парних стимулів з інтервалом від 2 до 20 мс [1]. Дослідження проводили за допомогою стандартної електрофізіологічної апаратури (електростимулятор ЕСУ-2, підсилювач УБП 2-03, аналого-цифровий перетворювач з реєстрацією на комп'ютер). Обробку отриманих даних проводили за допомогою стандартних методів варіаційної статистики. Достовірність даних оцінювали за допомогою методів параметричної (критерій Стьюдента) та непараметричної статистики (критерій Манна-Уїтні). Зміни визнавали статистично достовірними при $p < 0,05$. Всі експериментальні процедури були виконані відповідно до Європейської директиви Ради співтовариств від 24 листопада 1986 р. (86/609/ЕЕС), евтаназію здійснювали за допомогою введення летальної дози тіопенталу натрію.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз порогу виникнення сумарного ПД волокон ВК показав, що у тварин з експериментальною менопаузою спостерігається його зниження майже в 2 рази і становить $55,32 \pm 7,69\%$ порівняно з контрольною групою тварин ($p < 0,01$), параметри якої в цьому та подальших дослідках прийняті за 100% (рис. 1). Хронаксія ПД ВК порівняно з інтактними щурами збільшилася на $15,09 \pm 2,67\%$ ($p < 0,01$) (рис. 1).

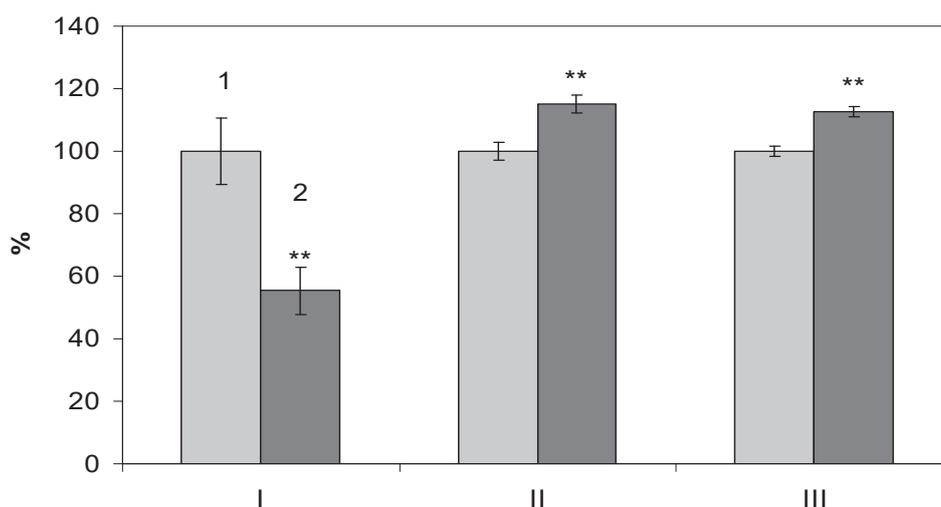


Рис. 1. Зміна параметрів збудливості еферентних волокон сідничного нерва (I – поріг, II – хронаксія, III – латентний період) за умов експериментальної менопаузи, порівняно з інтактною групою (взято за 100%). 1-інтактні тварини, 2-тварини з експериментальною менопаузою. ** $p < 0,01$ – достовірність порівняно з контролем

За умов дефіциту естрогенів латентний період ПД ДК при нанесенні супрамаксимальної стимуляції (5П) збільшився на $12,62 \pm 1,74\%$,

($p < 0,01$). Загальна тривалість та амплітуда ПД ДК при гіпоестрогенемії не відрізнялись від параметрів інтактної групи щурів (рис. 2).

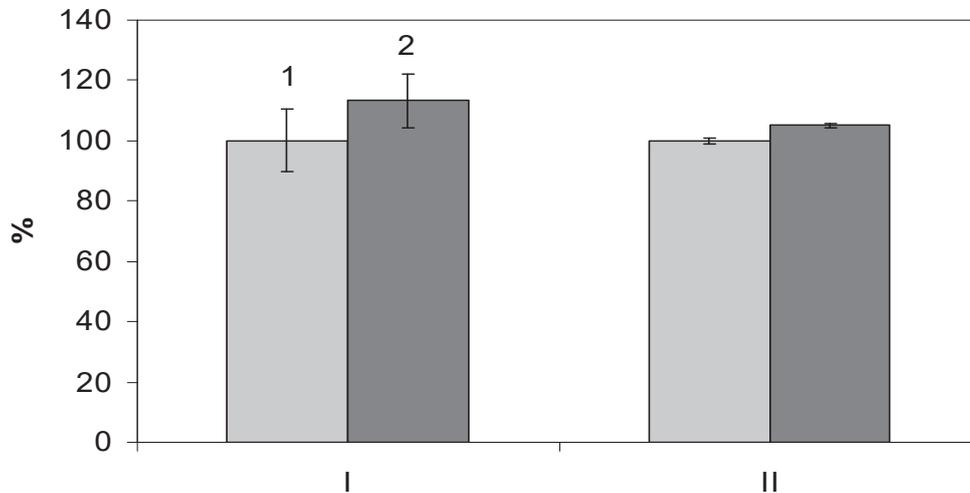


Рис. 2. Зміна параметрів потенціалу дії еферентних волокон сідничного нерва (I – амплітуда, II – тривалість) за умов експериментальної менопаузи, порівняно з інтактною групою (взято за 100%). 1-інтактні тварини, 2-тварини з експериментальною менопаузою

При аналізі динаміки відновлення амплітуди другого ПД при нанесенні парних подразнень спостерігалось відставання відновлення амплітуди відповіді на другий стимул у тварин з оваріогістеректомією на інтервалах 3 та 4 мс (рис. 3, 4) та становило відповідно $61,25 \pm 36,45\%$ та $53,48 \pm 18,64\%$ ($p < 0,05$).

Зменшення порогу активації еферентних волокон сідничного нерва, насамперед, може бути пов'язане зі зрушенням потенціалу залежності активації натрієвих каналів таким чином, що для досягнення порогу й генерації натрієвого струму нормальної величини потрібні менші рівні деполяризації [9]. Причиною цього може бути зниження рівня кальцію у крові, а отже і в міжклітинній рідині, зумовлене дефіцитом естрогенів після оваріоектомії [11], оскільки останні впливають на рівень кальцію у плазмі крові, сприяючи його всмоктуванню в кишечнику шляхом активації 25(OH)2-1- α -гідроксилази, необхідної для створення активного метаболіту вітаміну D, а також завдяки прямому впливу на реабсорбцію кальцію в нирках [14].

Також за умов ранньої хірургічної менопаузи, пов'язаної з оваріогістеректомією, спостерігається зниження рівня магнію в сироватці крові [11]. Це призводить до зменшення порогу збудження аксону, а отже, підвищенню збудливості нервів та м'язів, що спостерігалось і в наших цьому та попередньому дослідженнях [3]. Клітинною

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

Зафіксоване нами збільшення ЛП викликаного відповіді у тварин в експериментальній групі можна пояснити демієлінізацією нервових волокон м'якотного типу через порушення синтезу мієліну Шванівськими клітинами за умов нестачі естрогенів та особливо прогестинів [7, 16], а також деструктивними змінами фізичної організації аксолеми внаслідок порушення організації мікротрубочок аксонів, особливо в мієлінізованих волокнах, що негативно впливає на швидкість проведення імпульсу [5].

Зростання часових параметрів – хронаксії та ЛП також може бути проявом порушення кровопостачання нервових стовбурів, викликаного нестачою естрогенів [2,4], та відсутністю їх нейропротекторного впливу через зниження продукції судинного ендотеліального фактора росту в умовах гіпоксії [15]. Крім того, естрадіол пригнічує активність клітин мікроглії, опосередковує таким чином протективні механізми через зниження секреції останніми прозапальних факторів, що беруть участь у прогресивному нейрональному пошкодженні [6]. До того ж, естрогени знижують експресію NO-синтетази і концентрацію NO в мікроглії, модулюючи додатковий протизапальний ефект, що зменшує ступінь пошкодження нейронів в умовах ішемії [17]. Таким чином, нестача естрогенів може

призвести до ішемії нейронів та нервових стовбурів, котра, на тлі підвищеної чутливості до гіпоксії через зниження продукції судинного

ендотеліального фактора росту, проявляє себе у збільшенні часових параметрів збудливості та подовженні періодів рефрактерності.

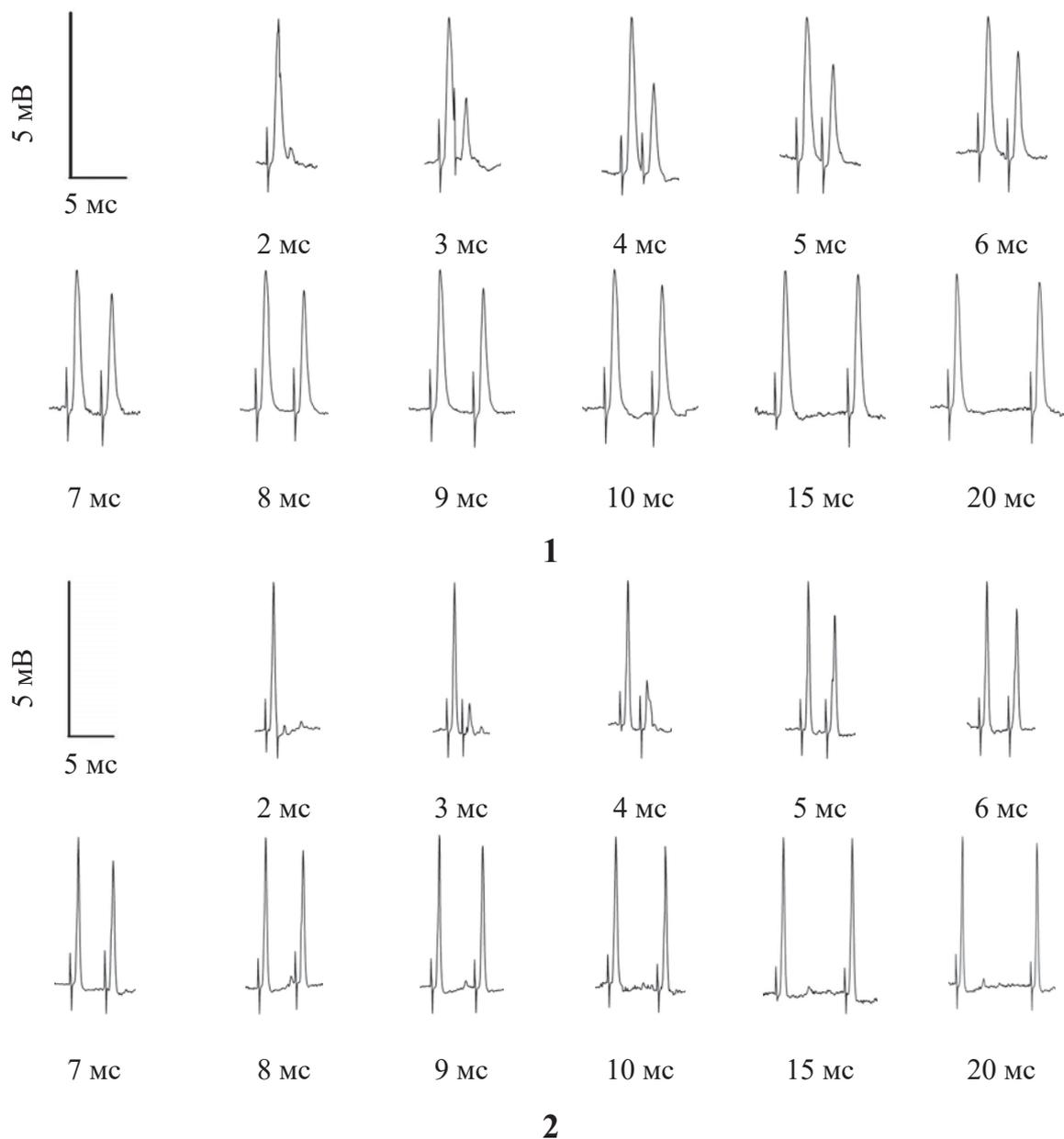


Рис. 3. Осцилограми викликаних відповідей еферентних волокон сідничного нерва при подразненні подвійними стимулами

Примітки: 1 – інтактні тварини, 2 – тварини після оваріоектомії.

Значне запізнення відновлення амплітуди відповіді на другий стимул у випадку подразнення нерва парними імпульсами за умов дефіциту естрогенів (рис. 3, 4) можна пояснити зниженням активності Na^+/K^+ -АТФази, і, як наслідок, уповільненням відновлення нормального трансмембранного градієнту іонів після збудження мембрани [13].

Підсумовуючи вищевикладене, можна сказати, що за умов раннього виникнення та тривалого існування дефіциту естрогенів під час хірургічної менопаузи спостерігається підвищення збудливості нервових волокон на фоні погіршення часових характеристик та зниження лабільності, що відповідає даним, отриманим нами при дослідженні збудливості нервово-м'язового комплексу за аналогічних умов [3].

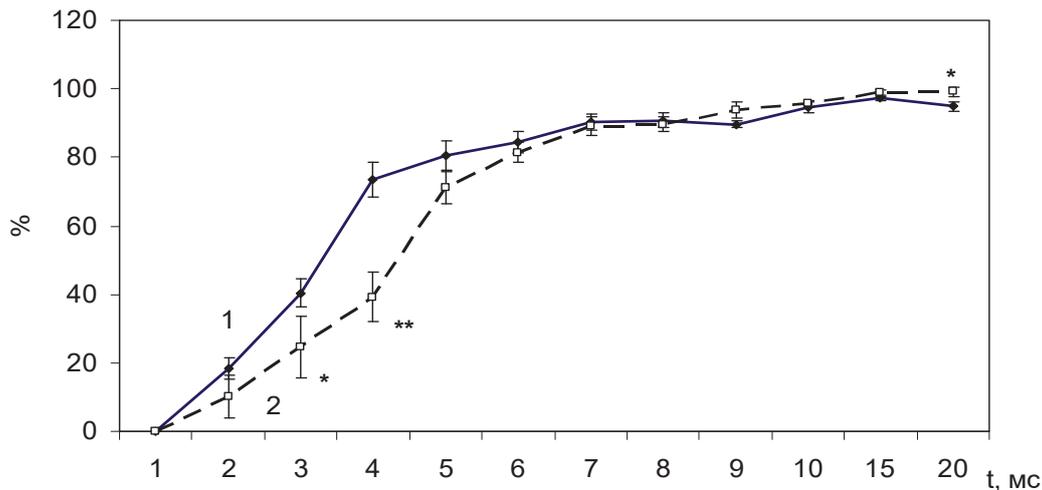


Рис. 4. Динаміка відновлення амплітуди другого потенціалу дії при стимуляції еферентних волокон сідничного нерва парними імпульсами зі зміною часового проміжку. Амплітуда першого потенціалу дії взята за 100%. 1-інтактні тварини, 2-тварини з експериментальною менопаузою

Примітки: * p<0,05; ** p<0,01 – достовірність порівняно з контролем.

ПІДСУМОК

Виявлені нами зміни спонукають до більш детального вивчення процесів, які проходять у вентральних корінцях СМ в умовах гіпоестро-

генемії, зокрема стан синаптичної передачі та моносинаптичні реакції цієї структури, що буде розглянуто в наших подальших дослідженнях.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. 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 // *Соврем. 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 // *Експерим. та клініч. 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 физиол. наук*. – 2007. – Т. 38, № 2. – С. 46-52.
5. 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, N 1. – P. 25-30.
6. Antiinflammatory effects of estrogen on microglia activation / A.J. Bruce-Keller, J.L. Keeling, J.N. Keller [et al.] // *J. Endocrinology*. – 2000. – Vol. 141. – P. 3646-3456.
7. Baulieu E.E. Progesterone as a neuroactive neurosteroid, with special reference to the effect of

- progesterone on myelination / E.E. Baulieu, M. Schumacher // *Human Reproduction*. – 2000. – Vol. 15, N 1. – P. 1-13.
8. Effect of steroid hormones on the peripheral nervous system / M. Koszykowska, J. Wojtkiewicz, M. Majewski, B. Jana // *J. Animal Feed Sciences*. – 2008. – N 17. – P. 3-18.
9. Frankenhaeuser B. The action of calcium on the electrical properties of squid axons / B. Frankenhaeuser, A.L. Hodgkin // *J. Physiology*. – 1957. – Vol. 137, N 2. – P. 218-244.
10. Hypomagnesemia. Medscape Reference (formerly eMedicine) from WebMD / T. Fulop, M. Agarwal, M. Agrahankar [et al.]. – 2013. Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/2038394-overview>.
11. Magnesium and Calcium levels in early surgical menopause / T.G. Sreekantha Satisha, S.S. Avinash, B.K. Manjunatha Goud, G.K. Remya Sudhakar [et al.] // *J. Clin. Diagnostic Research*. – 2011. – Vol. 5, N 1. – P. 55-57.
12. Mburu D. Menopause muscle pain and muscle tension: symptoms, causes, treatments. 2014. Last Modified: 2014. <https://www.consumerhealthdigest.com/menopause-center/menopause-muscle-pain-and-tension.html>
13. 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.] // *J. Biological Chemistry*. – 2011. – Vol. 286. – P. 32289-32299.

14. O'Loughlin P.D. Oestrogen deficiency impairs intestinal calcium absorption in the rat / P.D. O'Loughlin, H.A.Morris // *J. Physiology*. – 1998. – Vol. 511, N 1. – P. 313-322.

15. Paracrine and autocrine functions of neuronal vascular endothelial growth factor (VEGF) in the central nervous system / O.O. Ogunshola, A. Antic [et al.] // *J. Biological Chemistry*. – 2002. – Vol. 277, N 13. – P. 11410-11415.

16. Steroid hormone signaling between schwann cells and neurons regulates the rate of myelin synthesis / M.R. Paul, J.L. Andrew, K.N. Benjamin, S.Z. Thant [et al.] // *Annal New York Academy Sciences*. – 2003. – Vol. 1007. – P. 340-348.

17. Verthelyi D. Female's heightened immune status: estrogen, T cells, and inducible nitric oxide synthase in the balance / D. Verthelyi // *J. Endocrinology*. – 2006. – Vol. 147, N 2. – P. 659-661.

REFERENCES

1. Makii EA, Nerush PA, Rodinskii AG, Myakoushko VA. [Evoked Activity of Afferent and Efferent Fibers of the Sciatic Nerve in Rats under Conditions of Experimental Hyperthyroidism]. *Neurophysiology*. 2002;34(1):51-59. Ukrainian.

2. Malichenko SB, Volkova VA, Khalidova KK. [System changes in menopause. Role of deficiency of calcium and vitamin D in the formation of post-menopausal symptom]. *Sovremennaya reumatologiya*. 2008;1:20-31. Russian.

3. Rodins'kiy OG, Tkachenko SS, Mozgunov OV. [Electrophysiological analysis of neuromuscular complex excitability in experimental menopause]. *Ekspyrym ta klin fiziol and biohim*. 2014;(3):7-13. Ukrainian.

4. Fedotov YO, Sapronov NS. [Effects of estrogen in the central nervous system]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2007;38(2):46-52. Russian.

5. Unal D, Halici Z, Altunkaynak Z, Keles ON, Oral E, Unal B. A new hypothesis about neuronal degeneration appeared after a rat model of menopause. *Neurodegener Diseases*. 2012;9(1):25-30.

6. Bruce-Keller AJ, Keeling JL, Keller JN et al. Anti-inflammatory effects of estrogen on microglia activation. *J Endocrinol*. 2000;141:3646-456.

7. Baulieu EE, Schumacher M. Progesterone as a neuroactive neurosteroid, with special reference to the effect of progesterone on myelination. *Hum Reprod*. 2000;15(1):1-13.

8. Koszykowska M, Wojtkiewicz J, Majewski M, Jana B. Effect of steroid hormones on the peripheral nervous system. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 2008;17:3-18.

9. Frankenhaeuser B, Hodgkin AL. The action of calcium on the electrical properties of squid axons. *J Physiol*. 1957 July 11;137(2):218-44.

10. Fulop T, Agarwal, M, Agrahankar M, Arnold JL, Blumstein HA, Chrousos GP, et al. Hypomagnesemia. *Medscape Reference (formerly eMedicine) from WebMD*. Updated May 16, 2013. Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/2038394-overview>.

11. Sreekantha, Satisha TG, Avinash SS, Manjunatha Goud BK, Remya, Sudhakar GK, et al. Magnesium and Calcium levels in early surgical menopause. *J Clin Diagn Res*. 2011;(1):55-57.

12. Mburu D. Menopause muscle pain and muscle tension: symptoms, causes, treatments. 2014 May 3. Last Modified: October 21, 2014. Available at: <https://www.consumerhealthdigest.com/menopause-center/menopause-muscle-pain-and-tension.html>

13. Li Y, Yang J, et al. N-myc downstream-regulated gene 2, a novel estrogen-targeted gene, is involved in the regulation of Na⁺/K⁺-ATPase. *J Biol Chem*. 2011;286:32289-99.

14. O'Loughlin PD, Morris HA. Oestrogen deficiency impairs intestinal calcium absorption in the rat. *J Physiol*. 1998;511(1):313-22.

15. Ogunshola OO, Antic A, et al. Paracrine and autocrine functions of neuronal vascular endothelial growth factor (VEGF) in the central nervous system. *J Biol Chem*. 2002;277(13):11410-5.

16. Paul MR, Andrew JL, Benjamin KN, Thant SZ, Hedward C, Michael G. Steroid hormone signaling between schwann cells and neurons regulates the rate of myelin synthesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2003;1007:340-8.

17. Verthelyi D. Female's heightened immune status: estrogen, T cells, and inducible nitric oxide synthase in the balance. *J Endocrinol*. 2006;147(2):659-61.

Стаття надійшла до редакції
02.11.2015

