

УДК 616.379-008.64-092.9:612.833

О.Г. Родинський*,
О.Г. Зінов'єва*,
Л.А. Романенко**

МОНОСИНАПТИЧНІ ВІДПОВІДІ ВЕНТРАЛЬНИХ КОРІНЦІВ СПИННОГО МОЗКУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра фізіології*
(зав. – д. мед. н., проф. О.Г. Родинський)
кафедра гістології**
(зав. – д. мед. н., проф. І.В. Твердохліб)
вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна
SE "Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine"
department of physiology*
department of histology**
Dzerzhinsky str., 9, Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine
e-mail: zinovevael@mail.ru

Ключові слова: цукровий діабет, моносинаптичні реакції вентрального корінця, спинний мозок
Key words: diabetes mellitus, monosynaptic reactions of ventral root, spinal cord

Реферат. Моносинаптические ответы вентральных корешков спинного мозга в условиях экспериментального сахарного диабета. Родинский А.Г., Зиновьева Е.Г., Романенко Л.А. У интактных крыс и крыс с экспериментальным сахарным диабетом (СД) анализировали порог, хронаксию, латентный период, длительность и амплитуду моносинаптических разрядов вентрального корешка, а также периоды рефрактерности в ответ на его парную стимуляцию. Выявлено повышение порога возбудимости в 2 раза ($p < 0,01$), увеличение общей длительности ПД на 25% ($p < 0,001$), латентного периода на 32% ($p < 0,05$), а также снижение амплитуды на 11% ($p > 0,05$). В ответ на парную стимуляцию получено значительное повышение амплитуды ПД в группе с экспериментальным СД в промежутке 2-5 мс между импульсами. Сделан вывод о том, что в условиях СД происходит снижение возбудимости и проводимости в структурах спинного мозга на уровне L_5 , а также просматривается тенденция к увеличению способности к суммации возбуждения.

Abstract. Monosynaptic responses of ventral roots of spinal cord in experimental diabetes mellitus. Rodinsky A.G., Zinov'yeva E.G., Romanenko L.A. In intact rats and rats with experimental diabetes mellitus (DM) threshold, chronaxia, latent period, duration and amplitude of monosynaptic discharges of ventral root, as well as refractory periods in response to its paired stimulation were analyzed. There as found out increase in the threshold of excitability by 2 times ($p < 0,01$), increases in the total duration of action potential by 25% ($p < 0,001$), and latent period by 32% ($p < 0,05$) and decrease in its amplitude by 11% ($p > 0,05$). In the response to paired stimulation there was obtained a significant increase in the amplitude of action potential under experimental DM in the interval of 2-5 ms between stimulation. There was made a conclusion that in DM a decrease in excitability and conductivity of the spinal cord structures at the level of L_5 , occurred and a tendency to increase of ability to summation of excitation was seen.

Стан аферентних провідників спинного мозку (СМ) є одним з критичних факторів розвитку діабетичної невропатії, а особливо стан його підвищеної активності за умов гіперглікемії [1]. Існують також свідчення того, що вже на ранніх строках розвитку цукрового діабету (ЦД) до патологічного процесу залучаються не тільки сенсорні, але й моторні волокна [14], однак зазначені зміни можуть компенсуватися за рахунок реіннерваційного спраунтингу [5]. Дослідники здебільшого приділяють увагу функціонуванню окремих структур нейронів, залишаючи поза увагою цілісну функцію, яка, насамперед, безпосередньо характеризує провідність та генерацію

збудження у СМ. Також недостатньо з'ясованими залишаються механізми функціонування нейронів вентральних рогів СМ за умов гіперглікемії, а також стан синаптичної передачі, а отже – безпосередній стан центральної ланки рефлексорної дуги моносинаптичного рефлексу.

У зв'язку з цим, завданням нашого дослідження було з'ясування функціонального стану моносинаптичних розрядів вентральних корінців (МР ВК) СМ за умов експериментального ЦД.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження були проведені на 23 молодих статевозрілих самцях білих щурів лінії Вістар вагою 180-240 г, яких було розподілено на дві

групи: інтактні тварини (n=12) та тварини з експериментальним ЦД (n=11). Моделювання ЦД проводили одноразовим інтраперитонеальним введенням аллоксану моногідрату (Sigma, США) у дозі 170 мг/кг маси щура після добової харчової депривації при збереженому доступі до води, детальніше методику відтворення ЦД було описано в наших попередніх дослідженнях [1]. На 30-у добу тварин брали в гострий експеримент. Під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг інтраперитонеально) проводили ламінектомію, після цього проводили розтин твердої мозкової оболонки, перерізуку СМ на рівні Th₁₂ - L₁ та виділяли дорсальні та вентральні корінці сегмента L₅, які перетинали біля виходу з хребта, після цього заливали спинний мозок теплою вазеліновою олією. Через 3 години починали відведення біоелектричної активності СМ. Для цього подразнюючі електроди розташовували на центральних відрізках дорсальних корінців СМ, відведення проводили від центральних відрізків вентрального корінця. Для подразнення використовували прямокутні імпульси силою від 1 до 5 порогів (П). Для аналізу динаміки збудливості застосовували подразники зростаючої інтенсивності (від 1,1 до 2 П). Динаміку фаз рефрактерності оцінювали за допомогою парних стимулів (міжстимульний інтервал від 2 до 20 мс) [6].

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

Всі досліді з тваринами проводили з урахуванням норм біомедичної етики. Евтаназію після закінчення експерименту здійснювали за допомогою введення летальної дози тіопенталу натрію.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

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

При дослідженні порогу збудження вентрального корінця у тварин інтактної групи було встановлено, що він становив 18,25±2,88 мВ, тоді як у тварин з ЦД цей показник суттєво збільшувався та становив 202,73±15,54 % (p<0,01, рис.1).

Хронаксія тварин інтактної групи становила 93,33±4,18 мкс, у тварин з ЦД цей показник змінювався незначно та становив 102,17±5,38 % (p>0,05, рис. 1).

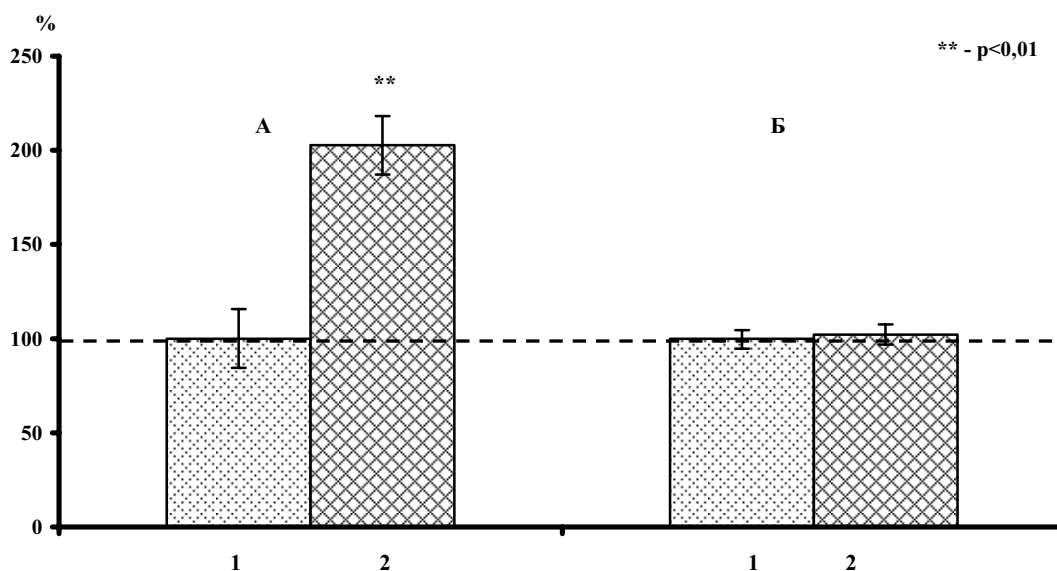


Рис. 1. Середні значення порогу (А) та хронаксії (Б) МР ВК в інтактних тварин (1) і тварин з ЦД (2)

Виявлене нами підвищення порогу виникнення МР ВК може бути наслідком зниження збудливості безпосередньо в дорсальнокорінцевому апараті, про що свідчать наші попередні дослідження потенціалу дорсальної поверхні,

зокрема такого його компоненту, як аферентний пік [1]. Також, оскільки за умов гіперглікемії порушується функціонування клітинних мембран внаслідок вільнорадикального пошкодження та за рахунок зниження енергоутворення в клітинах,

внаслідок якого відбувається порушення активності Na^+/K^+ -Атф-ази [2, 3, 4], може виникати зниження мембранного потенціалу спокою і призводити до вищевказаних змін порогу. Відсутність достовірних змін хронаксії не виключає можливості ураження мембранних каналів, оскільки такі дані також демонструють зміни збудливості вентральних корінців СМ. Тож цей параметр потребує більш детального вивчення,

зокрема дослідження стану Na^+ -каналів цієї ділянки.

При аналізі параметрів МР ВК виявлено, що латентний період його виникнення становив $1,068 \pm 0,046$ мс, тривалість МР ВК – $1,72 \pm 0,16$ мс, амплітуда – $2,76 \pm 0,31$ мВ. У тварин з ЦД (рис. 2.) ці показники відповідно становили $132,68 \pm 5,36\%$ ($p < 0,001$), $125,0 \pm 8,37\%$ ($p < 0,05$), $78,62 \pm 14,28\%$ ($p < 0,01$).

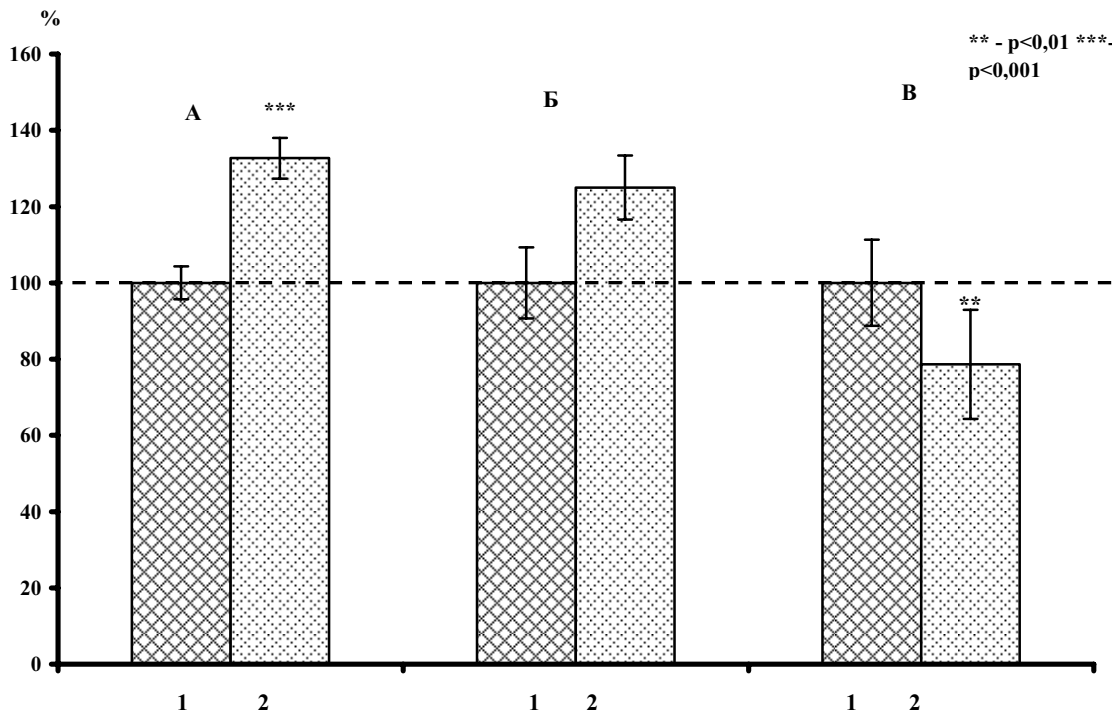


Рис. 2. Середні значення латентного періоду (А), тривалості (Б), амплітуди (В) МР ВК в інтактних тварин (1) і тварин з ЦД (2)

Оскільки амплітуда МР ВК є основним показником залучення в рефлекторну відповідь певної кількості мотонейронів, можна припустити, що в умовах гіперглікемії відбувається порушення функціонування трансмембранних білків, які відповідальні за формування потенціалу дії чи зміни функцій синапсів (порушення синтезу, викиду чи рецепції медіатора), але це лише припущення, яке не має підтвердження в літературі, оскільки цей напрямок дослідження взагалі висвітлювався в сучасних наукових працях.

Оскільки є очевидним те, що гіперглікемія не може вибірково уражати лише провідниковий та аферентний апарат, тож виявлені нами зміни збудливості та провідності можуть бути наслідком гіперглікемічного каскаду перетворень, що перебігає за поліоловим шляхом з накопиченням

осмотично активного сорбітолу та фруктози, що, в свою чергу, призводить до набряку клітин, порушення проведення нервового імпульсу [3, 11, 13]. Накопичення вільних радикалів і продуктів глікозилювання під час цих перетворень на фоні зниженої активності антиоксидантних систем організму призводить до ушкодження клітинних мембран та може бути основою розвитку діабетичної невропатії не лише периферичних, але й центральних структур нервової системи [8, 15].

В експериментах на ізольованих сегментах СМ дослідниками було виявлено зменшення діаметру моторних аксонів, яке прогресувало в дистальному напрямку, як наслідок порушення аксотранспорту нейрофіламентів [7, 9].

Аналіз динаміки збудливості при нанесенні стимулів зростаючої інтенсивності виявив деяке

підвищення відповідей у тварин з ЦД (рис. 3). Причиною такого підвищення, на нашу думку, може бути підвищення порогу збудження, через це може збільшуватися кількість збуджених

нейронів вентрального рогу СМ, які мають більш високий поріг збудження, таким чином і амплітуда МР ВК у відповідь на таку стимуляцію може зростати.

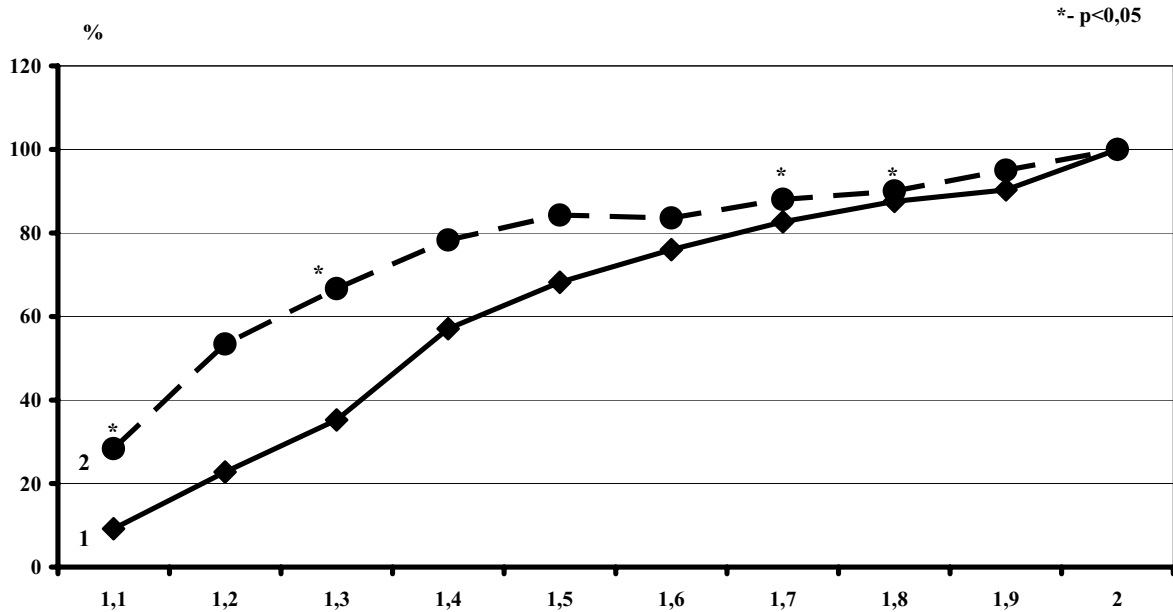


Рис. 3. Динаміка збудливості ВК при нанесенні стимулів зростаючої інтенсивності в інтактних тварин (1) і тварин з ЦД (2)

При дослідженні динаміки фаз рефрактерності на всіх часових проміжках (з 2-ї по 20 мс) спостерігалось пригнічення амплітуди МР ВК в інтактних тварин та у тварин з експериментальним ЦД, але лише на деяких інтервалах дані мали достовірний характер (рис. 4). Таке пригнічення амплітуди МР ВК було найбільш виражене в інтактних тварин на 9 мс, а у тварин з ЦД – на 15 мс, після чого починалося його поступове відновлення. Слід зазначити, що тварини з ЦД реагували на другий стимул дещо парадоксально – значним підвищенням на перших проміжках, що може бути наслідком того, що за умов ЦД можуть подовжуватися періоди відносної рефрактерності, а отже й короткі проміжки між стимулами можуть потрапляти на період супернормальної збудливості. Також можливо, що внаслідок підвищення порогу збудження у рефлекторну відповідь може втягуватися більша кількість нейронів з більш високим порогом збудження (оскільки в цій серії дослідів використовувався стимул силою 2 пороги), що простежується в дослідженнях цієї серії та може бути причиною того, що при ЦД амплітуда другого потенціалу перевищує амплі-

туду першого. Пояснити такі явища, вочевидь, можна тим, що за умов ЦД подовжується тривалість потенціалів дії не лише периферичних нервових структур, але й центральних [12], а це, в свою чергу, викликає зміни тривалості періодів абсолютної та відносної рефрактерності. До таких змін можуть призводити метаболічні перетворення, за яких порушується активність Na^+/K^+ -Атф-ази [3], яка є одним з ключових елементів у створенні умов для виникнення потенціалу дії.

Також дослідники [10] з'ясували, що у тварин з експериментальним ЦД відбувається пригнічення спінального гальмування, яке сприяє збільшенню сегментарної моторної еферентації, що також може призводити до підвищення відповідей на парну стимуляцію.

Виявлені нами зміни підкреслюють той факт, що дослідження МР ВК, дослідження стану самих мотонейронів, їх синапсів, каналів, мембран залишається одним з найактуальніших питань моторної невропатії за умов ЦД, оскільки є всі передумови для ствердження того факту, що гіперглікемія вносить суттєві зміни у функціонування рефлекторної дуги СМ.

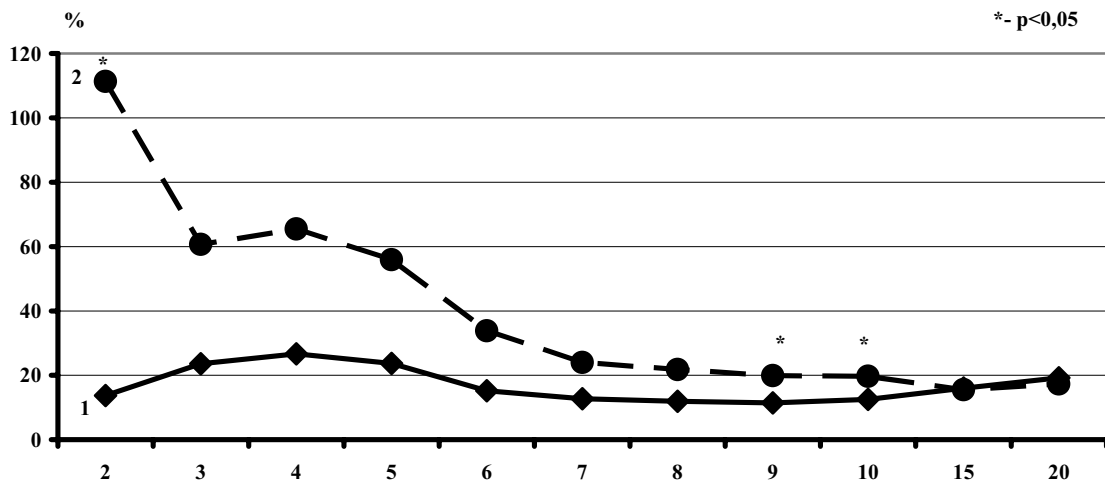


Рис. 4. Динаміка фаз рефрактерності МР ВК при нанесенні парних стимулів у інтактних тварин (1) і тварин з ЦД (2)

ПІДСУМОК

Нами виявлено, що за умов експериментального ЦД відбуваються зміни у функціонуванні моторного апарату СМ, що проявляється у підвищенні порогу виникнення МР ВК у відповідь на стимуляцію дорсального корінця СМ, яка свідчить про зниження збудливості цієї ділянки. Відбувається пригнічення процесів

провідності, що підтверджується подовженням тривалості МР ВК вентрального корінця та його латентного періоду. Гіперглікемія викликає зміни в динаміці фаз рефрактерності, що призводить до подовження фази супернормальної збудливості і, як наслідок, підвищення амплітуди ПД у відповідь на парну стимуляцію.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Активність інтернейронних пулів спинного мозку за умов експериментального цукрового діабету / О.Г. Родинський, О.Г. Зінов'єва, О.В. Мозгунов, О.С. Трушенко // Фізіол. журнал. – 2013. – № 5. – С. 50-55.
2. Занозина О.В. Свободно-радикальное окисление при сахарном диабете 2-го типа: источники образования, составляющие, патогенетические механизмы токсичности / О.В. Занозина, Н.Н. Боровков, Т.Г. Щербатюк // Современные технологии в медицине. – 2010. – №3. – С.104-112.
3. Калинин А.П. Диабетическая нейропатия / А.П. Калинин, И.Г. Рудакова, С.В. Котов // Альманах клинич. медицины. – 2001. – № 4. – С. 95-107.
4. Метаболическая коррекция неврологических осложнений сахарного диабета / С.А. Румянцева, В.А. Ступин, Е.В. Силина [и др.] // Фармакотерапия. - 2010. – № 4. – С. 77-83.
5. Неретин В.Я. Клинико-электрофизиологическое изучение состояния нервно-мышечной системы у больных сахарным диабетом 1 и 2 типов / В.Я. Неретин, С.В. Котов, Л.В. Петина // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 1997. – № 2. – С.34-38.
6. Родинський О.Г. Збудження та гальмування в моносинаптичних рефлекторних дугах білих щурів за

- умов спінальної суперрефлексії / О.Г. Родинський // Фізіол. журнал. – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 94-100.
7. Bomers K Redistribution of axoplasm in the motor root in experimental diabetes / K. Bomers, H. Braendgaard, A. Flyvbjerg // Acta Neuropathol. - 1996. - Vol. 92, N 1. – P. 98-101.
8. Cameron N.E. The aetiology of neuropathy in experimental diabetes / N.E. Cameron // Brit. J. Diabetes Vascular Disease. – 2003. – Vol. 3, N 2. – P. 98-105.
9. Fink D.J. Alterations in retrograde axonal transport in streptozocin-induced diabetic rats / D.J. Fink, D. Purkiss, M. Mata // Diabetes. – 1987. – Vol. 36, N 9. – P. 996-1000.
10. Functional alteration of inhibitory influences on spinal motor output in painful diabetic neuropathy in rats / M. Tanabe, S. Shimizu, K. Takabayashi [et al.] // Neurosci. Lett. – 2005. – Vol. 389, N 3. – P. 152-6.
11. Goh S.Y. The Role of Advanced Glycation End Products in Progression and Complications of Diabetes / S.Y. Goh, M.E. Cooper // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 93, N 4. – P. 1143-1152.
12. Neurophysiological changes in the central and peripheral nervous system of streptozotocin-diabetic rats. Course of development and effects of insulin treatment / G-J. Biessels, N.A. Cristino, G-J. Rutten [et al.] // Brain. – 1999. – Vol. 122, N 12. – P.757-768.

13. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy // A.M. Vincent, J.W. Russell, P. Low, E.L. Feldman // *Endocrine Reviews*.-2004.-Vol. 25, №4.-P. 612–628.

14. Sima A.A. Proximal motor neuropathy in the BB-Wistar rat / A.A. Sima, P. Thibert // *Diabetes*. – 1982. – Vol.31, N 9. – P. 784-788.

15. Wright R.A. Vascular and metabolic factors in the pathogenesis of experimental diabetic neuropathy in mature rats / R.A. Wright, H. Nukada // *Brain*. – 1994. – Vol. 117, N 6. – P. 1395-407.

REFERENCES

1. Rodyn'skyj OG, Zinov'jeva OG, Mozgunov OV, Trushenko OS. [Activity of interneuron pools of the spinal cord in experimental diabetes mellitus]. *Physiological journal*. 2013;5:50-55. Ukrainian.

2. Zanozina OV, Borovkov NN, Shherbatjuk TG. [Free-radical oxidation of type 2 diabetes mellitus: sources of formation, components, pathogenetic mechanisms of toxicity]. *Modern Techniques in Medicine*. 2010;3:104-112. Russian.

3. Kalinin AP, Rudakova IG, Kotov SV. [Diabetic neuropathy]. *Almanac of clinical medicine*. 2001;4:95-107. Russian.

4. Rumjanceva SA, Stupin VA, Silina EV. [Metabolic treatment of neurological complications of diabetes mellitus]. *Pharmacotherapy*. 2010;4:77-83. Russian.

5. Neretin VJ, Kotov CB, Petina LB. [Clinical and electrophysiological study of the state of the neuromuscular system in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus]. *The Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 1997;2:34-38. Russian.

6. Rodinskij OG. [Excitation and inhibition in the monosynaptic reflex arcs of white rats under spinal superreflexion]. *Physiological journal*. 2006;52(1):94-100. Ukrainian.

7. Bomers K., Braendgaard H., Flyvbjerg A., Sidenius P. Redistribution of axoplasm in the motor root in experimental diabetes. *Acta Neuropathol*. 1996;92(1):98-101.

8. Cameron N.E. The aetiology of neuropathy in experimental diabetes. *British Journal of Diabetes and Vascular Disease*. 2003;3(2):98-105

9. Fink DJ, Purkiss D, Mata M. Alterations in retrograde axonal transport in streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes*. 1987;36(9):996-1000.

10. Tanabe M, Shimizu S, Takabayashi K et al. Functional alteration of inhibitory influences on spinal motor output in painful diabetic neuropathy in rats. *Neurosci. Lett*. 2005;389(3):152-6.

11. Goh SY, Cooper ME. The Role of Advanced Glycation End Products in Progression and Complications of Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2008;93(4):1143–1152.

12. Biessels G-J, Cristino NA, Rutten G-J et al. Neurophysiological changes in the central and peripheral nervous system of streptozotocin-diabetic rats. Course of development and effects of insulin treatment. *Brain*. 1999;122(12):757–768.

13. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*. 2004;25(4):612–628.

14. Sima AA, Thibert P. Proximal motor neuropathy in the BB-Wistar rat. *Diabetes*. 1982;31(9):784-788.

15. Wright RA, Nukada H. Vascular and metabolic factors in the pathogenesis of experimental diabetic neuropathy in mature rats. *Brain*. 1994;117(6):1395-407.

Стаття надійшла до редакції
15.01.2014

