

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

ТКАЧЕНКО СЕРГІЙ СЕРГІЙОВИЧ

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

**ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ АКТИВНОСТІ
РЕФЛЕКТОРНИХ ДУГ СПИННОГО МОЗКУ
В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МЕНОПАУЗИ**

14.03.03 – нормальна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Львів – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фізіології Державного закладу «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

Науковий керівник доктор медичних наук, професор **Родинський Олександр Георгійович**, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», завідувач кафедри фізіології

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України **Шандра Олексій Антонович**, Одеський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фізіології

доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України **Вадзюк Степан Несторович**, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського» МОЗ України, завідувач кафедри фізіології

Захист відбудеться « 10 » лютого 2017 р. о 14⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.03 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького (79010, м. Львів, вул. Пекарська, 52)

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6)

Автореферат розісланий « 23 » грудня 2016 р.

**Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради**

Томашова С.А.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В останні десятиліття на тлі діагностичних методик, якість яких значно поліпшилась, істотно збільшилася кількість жінок репродуктивного періоду, яким проводиться оваріоектомія і / або гістеректомія. Так, в 2001 р. на кожні 100 тисяч жіночого населення України виявлялося 18 випадків захворювання на рак шийки матки, а в 2011 р. – вже 20,3. Щороку реєструється близько 2 тисяч нових випадків захворювання, що говорить про збереження актуальності проблеми (Зайкова Т.В., 2014). Видалення яєчників призводить до різкої зміни гормонального балансу, що викликає характерні патологічні зміни у всіх основних системах жіночого організму – хірургічну менопаузу. Питання віддалених наслідків хірургічної менопаузи залишаються мало вивченими та актуальними, оскільки своєрідний патологічний симптомокомплекс, що розвивається у жінок в більшості випадків після оперативного втручання, зокрема періодичні судоми м'язів, парестезії, оніміння пальців, зниження сили та тонуусу скелетних м'язів, тощо (Lundberg U. et al., 2008; Mburu D., 2014), призводить до суттєвого зниження якості життя (Манушарова Р.А., 2004; Гаспарян С.А., Кальченко Е.С., 2011). На теперішній час велику кількість робіт присвячено змінам у центральній нервовій системі (ЦНС) в умовах дефіциту жіночих статевих гормонів (Ходырев Г.Н., 2012; Уварова Е.В., Хашченко Е.П., 2014; Li L.-H. et al., 2014; Mosqueraa L. et al., 2014) та впливу жіночих статевих стероїдів на функціонування периферичної нервової системи (Unal D. et al., 2012; Du Juan et al., 2014; Mburu D., 2014; Van Kempen T.A. et al., 2014; Christianson MS. et al., 2015). Разом з тим, відомо мало досліджень, у яких би проводився аналіз рефлекторної діяльності нервової системи (Zhong Y.Q. et al., 2010; Mosqueraa L. et al., 2014). Найчастіше розкривається вплив естрогенів на окремі ізольовані нервові волокна чи нервові клітини (Unal D. et al., 2012; Du Juan et al., 2014; Karki P. et al., 2014; Wu S.Y. et al., 2016). Проте, залишаються нез'ясованими питання функціонального стану рефлекторної дуги спинного мозку (СМ) та взаємозв'язки у роботі різних ланок рефлекторної дуги СМ на віддалених термінах менопаузи. У зв'язку з цим актуальним є доповнення вже існуючих даних новими результатами електрофізіологічних досліджень функціонального стану спинномозкової рефлекторної дуги, як цілісної системи, за умов дефіциту жіночих статевих стероїдів. Найбільший інтерес при цьому становлять електрофізіологічні показники роботи її окремих частин – скелетного м'яза, аферентних та еферентних нервових шляхів, мотонейронного апарату та вплив збоку інтернейронних пулів дорсальних рогів СМ. Це дає можливість не лише оцінити ступінь пошкодження, а й розробити комплексний підхід до відновних терапевтичних заходів, а що особливо важливо – до можливого попередження віддалених наслідків ранньої менопаузи.

Отже, враховуючи, що за даними статистики кількість оваріоектомій зростає з кожним роком, а також недостатню з'ясованість нейрофізіологічних механізмів розвитку функціональних порушень цілісної рефлекторної дуги у віддалених строках ранньої менопаузи, наше дослідження є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження є частиною науково-дослідної роботи кафедри фізіології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Механізми адаптивних реакцій центральних та периферичних відділів нервової системи за нормальних та патологічних умов» (держреєстрація УкрІНТЕІ № 0111U002789). Тема роботи затверджена Проблемною комісією НАМН України «Нормальна та патологічна фізіологія» (протокол № 2 від 31 травня 2012 р.) та на засіданні Вченої ради ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 2 від 27 вересня 2012 р.).

Мета дослідження. З'ясування особливостей біоелектричної активності різних ділянок сегментарної рефлекторної дуги спинного мозку за умов експериментальної менопаузи (ЕМ).

Задачі роботи: Виходячи з поставленої мети роботи вирішувались наступні задачі:

1. Визначити особливості функціонування нервово-м'язового комплексу за умов експериментальної менопаузи;
2. Оцінити особливості функціонального стану аферентних і еферентних нервових волокон за умов експериментальної менопаузи;
3. З'ясувати особливості функціонування інтернейронних пулів спинного мозку за умов експериментальної менопаузи;
4. Встановити особливості функціонування мотонейронів спинного мозку за умов експериментальної менопаузи;
5. Оцінити можливості фармакологічної корекції нейропатичних наслідків експериментальної менопаузи.

Об'єкт дослідження: біоелектричні процеси, які відбуваються в рефлекторних дугах спинного мозку за умов експериментальної менопаузи.

Предмет дослідження: показники викликаної біоелектричної активності основних компонентів рефлекторної дуги спинного мозку за умов експериментальної менопаузи.

Методи дослідження: моделювання менопаузи шляхом малоінвазивної оваріогістеректомії, електрофізіологічні – для дослідження біоелектричної активності компонентів рефлекторної дуги спинного мозку, біохімічні – для визначення рівня естрадіолу, іонів кальцію та магнію у плазмі крові, морфологічні – для верифікації моделі експериментальної менопаузи, а також статистичні – для оцінки вірогідності отриманих даних.

Наукова новизна одержаних результатів. Проведено комплексну оцінку активності різних ділянок сегментарної рефлекторної дуги спинного мозку за умов експериментальної менопаузи. Виявлено, що за вказаних умов значно підвищується збудливість нервово-м'язового апарату на фоні збільшення латентності та тривалості періодів рефрактерності, що знижує лабільність, а також посилення явищ гомосинаптичної депресії у міжнейронних та нервово-м'язових синапсах. Поглиблено знання про характер дії тривалої гіпоестрогенемії на стан аферентних та еферентних волокон, зокрема вираженого підвищення збудливості разом із погіршенням часових

характеристик – збільшення тривалості латентного періоду, хронаксії та фаз рефрактерності, виявлено суттєве збільшення активності нейронів спинномозкових гангліїв.

Вперше виявлено підвищення збудливості та біоелектричної активності мотонейронів СМ разом з пригніченням викликаних моносинаптичних розрядів вентральних коренців (МРВК) на частотах понад 10 Гц.

Також встановлено характер функціонування інтернейронів СМ в умовах гіпоестрогенемії, що проявлялося у значному підвищенні порогу виникнення потенціалу дорсальної поверхні (ПДП) СМ разом із збільшенням активності нейронів желатинозної субстанції, що обумовлює посилення процесів пресинаптичного гальмування вхідних сигналів на інтервалі частот від 10 Гц до 170 Гц та може пояснити пригнічення викликаного моторної еферентації на цьому ж діапазоні.

Запропоновано можливий спосіб корекції прихованих порушень у функціонуванні нервово-м'язового апарату та еферентних волокон за умов тривалої гіпоестрогенемії за допомогою комбінованого метаболічного препарату з антигіпоксантами та антиоксидантними властивостями.

Практичне значення одержаних результатів. У даній роботі розкриваються наявні чи приховані ланки механізмів сенсорних і моторних розладів за умов тривалої гіпоестрогенемії, які перебігають на рівні сегментарної рефлекторної дуги СМ. Виявлення локалізації таких порушень, їх функціональних взаємозв'язків дасть змогу розробити або доповнити цілеспрямовані патогенетичні кроки в межах терапевтичних підходів, а також розробити можливі заходи щодо профілактики розвитку нейропатичних ускладнень ранньої менопаузи. Автором розроблено операційний стіл – стенд спеціальної конструкції для проведення оперативних втручань та електрофізіологічних досліджень на лабораторних тваринах, що дозволяє оптимізувати час проведення досліду та знизити кількість ускладнень та втрат тварин при проведенні гострого експерименту (патент на винахід UA 104390, МПК G09B 23/36, Ткаченко С.С., Родинський О.Г., 2013) та електронний цифровий стимулятор з широкими функціональними можливостями, достатніми для проведення електрофізіологічних досліджень на лабораторних тваринах з прийнятною точністю (патент на корисну модель UA 83729, МПК A61N 1/36, Ткаченко С.С., Родинський О.Г., 2013).

Результати дослідження впроваджені в навчально-педагогічний процес кафедр ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»: фізіології; патологічної фізіології; фармакології та клінічної фармакології; біохімії, медичної та фармацевтичної хімії; ендокринології; кафедр нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету та ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»; кафедри фізіології людини та тварин Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара; кафедри фізіології Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто проведено всі серії електрофізіологічних досліджень, проведено аналіз і узагальнення отриманих

даних, їх статистичну обробку, а також сформульовані головні висновки дисертації. В дисертації не було використано ідей та розробки, що належать співавторам опублікованих наукових праць. Усі дослідження проведені у ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»: електрофізіологічні – на базі кафедри фізіології (керівник – д.мед.н., професор Родинський О.Г.); біохімічні – на базі Діагностичного центру (керівник – к.б.н. Братусь О.В.).

Апробація результатів. Головні положення дисертації обговорені на VI конгресі Українського товариства нейронаук (Київ, 2014) та I Міжнародній заочній науково-практичній конференції «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук» (Херсон – Миколаїв, 2015).

Публікації. Основні положення та висновки дисертації опубліковані у 10 наукових працях, із них 6 статей у фахових журналах, що входять до переліку ДАК України (4 з них включені до міжнародних наукометричних баз), один патент України на винахід, один патент України на корисну модель, а також 2 роботи – в матеріалах конгресу та науково-практичної конференції.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, опису методів досліджень, 7 розділів результатів дослідження, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків. Дисертація викладена на 193 сторінках, з яких обсяг основного тексту складає 136 сторінок, містить 56 рисунків, 8 таблиць, список використаних джерел складається з 292 найменувань.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Методи дослідження. Експерименти проведені на 220 статевозрілих самицях щурів лінії Вістар вагою 180 – 260 г, віком 5 – 6 місяців. Тварини утримувалися у стандартних умовах віварію при t 22 – 24 °С з 12-годинним темним та 12-годинним світлим проміжком доби. Всі експерименти здійснювалися відповідно до біоетичних норм та принципів, затверджених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001), а також на засіданнях комісії з питань біоетики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», протоколи № 7 від 23.11.2011 та № 8 від 10.05.2016.

Експериментальну менопаузу створювали шляхом малоінвазивної тотальної овариогістеректомії (Киршенблат Я.Д., 1989). Тваринам контрольної групи виконували оперативне втручання без видалення матки та яєчників. Операція виконувалася на операційному столі конструкції власної розробки (патент на винахід № 104390). Через 120 днів утримання у стандартних умовах віварію тварин контрольної та піддослідної груп виконували гострий експеримент згідно програми дослідження. Для верифікації моделі менопаузи проводили мікроскопічне цитологічне дослідження піхвових мазків через 120 днів після операції (Гилл Г.У., 2015), а також вибірково визначали рівень 17 β -естрадіолу плазми крові. Для корекції менопаузальної нейропатії на периферичній ланці рефлекторної дуги було застосовано комплексний

метаболічний препарат з цитопротекторними властивостями Цитофлавін у розчині для ін'єкцій (ТОВ "НТФФ "ПОЛИСАН", РФ), який вводили протягом 10 днів у дозі 0,013 мл / 100 г маси щура через 120 днів після оваріогістеректомії (Афанасьєв В.В., 2005; Клочева Е.Г., 2008). Препарат є збалансованим комплексом бурштинової кислоти (1 г), рибоксину (200 мг), рибофлавіну мононуклеотиду (20 мг) та нікотинаміду (100 мг) (Коваленко А.Л., 2002). В якості препарату корекції було обрано негормональний засіб, оскільки досить часто оваріоектомію виконують з приводу онкологічних захворювань, при яких застосування замісної гормональної терапії не бажано, а інколи й неможливо.

Для наркотизації тваринам інтраперитонеально вводили тіопентал натрію у дозі 50 мг / 1000 г маси тіла щура (Макій Є.А. та ін., 2001). Протягом усього експерименту у тварин зберігалось власне дихання. Евтаназія здійснювалася за допомогою інтракардіального введення летальної дози тіопенталу натрію.

На наступному етапі проводили виділення сідничного нерва (СН). У дослідях на нервово-м'язовому апараті після виділення СН його перев'язували у верхній третині. У всіх інших дослідях перев'язка проводилася над місцем входження нерва в м'яз.

У серії дослідів на СМ проводили ламінектомію на рівні сегментів Th₁₂ – L₆, тверду мозкову оболонку розтинали скляним гачком, хордотомію проводили на рівні Th₁₂ – L₁ для виключення супраспінальних впливів. СМ заливали вазеліновою олією для запобігання пересиханню та попередження впливу інфрачервоного випромінювання. Відведення біоелектричної активності починали не раніше ніж через 3 години після проведення оперативного втручання, після того, як минули явища спинального шоку.

Вивчали такі параметри як поріг (П), хронаксія, латентний період (ЛП), амплітуда та тривалість потенціалу дії (ПД) чи його окремих компонентів. Було використано електричні імпульси прямокутної форми тривалістю 0,3 мс, інтенсивність від 1 до 5 П, в залежності від встановлених задач. За необхідності використовували стимули зростаючої інтенсивності, а також стимуляцію нервових волокон парними імпульсами чи їх серією з метою вивчення гальмівних процесів та лабільності. Визначення порогу збудження проводили за силою струму.

Для подразнення використовувався електростимулятор ЕСУ–2. Біоелектричні відповіді підсилювалися за допомогою біологічного модульного підсилювача типу УБМ та передавалися на аналогово-цифровий перетворювач з реєстрацією на персональному комп'ютері. При дослідженні біоелектричної активності нервово-м'язового апарату подразнюючі біполярні електроди розташовували на середній третині СН (непряме подразнення), або вводили у м'яз (пряме подразнення), відведення проводили за допомогою голчастих електродів, які були розташовані у литковому м'язі та його сухожиллі. Для аналізу динаміки збудливості поступово збільшували силу стимуляції від 1,1 до 2 П (Неруш П.О. та ін., 2001).

Для дослідження біоелектричної активності інтернейронних пулів

дорсальних рогів СМ подразнення наносили біполярно на проксимальну ділянку корінця L₅, пересіченого на рівні міжхребцевого отвору, відведення ПДП СМ проводили за допомогою монополярного електроду з дорсальної поверхні СМ у фокусі максимальної активності, референтний електрод розміщували на м'язах нижньої кінцівки.

При дослідженні біоелектричної активності дорсального та вентрального корінців СМ відведення викликаної активності проводили від пересічених на рівні входу у СМ їх проксимальних відрізків при стимуляції іпсилатерального СН. Для дослідження МР ВК корінці СМ сегменту L₅ перетинали біля виходу з хребта. Подразнюючі електроди розташовували на центральних відрізках ДК СМ, відведення проводили від центральних відрізків ВК СМ. Параметри подразнення застосовували такі ж, як у попередніх серіях.

Статистична обробка матеріалів дослідження проводилася з використанням методів біометричного аналізу, реалізованих у пакетах ліцензійних програм EXCEL–2003® і STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., серійний № AGAR909E415822FA). Перевірку на нормальність розподілу значень проводили за допомогою розрахунку критерію Шапіро–Уїлка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то достовірність даних оцінювали за допомогою t-критерію Стюдента для незв'язаних вибірок. Якщо нормальність була відхилена, статистичну вірогідність оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна–Уїтні. Статистично достовірними дані визначали за трьома рівнями: $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ (Реброва О.Ю., 2002).

Результати власних досліджень та обговорення результатів.

Біоелектрична активність нервово-м'язового апарату за умов експериментальної менопаузи. Було виявлено підвищення збудливості нервово-м'язового апарату, про що свідчить зниження порогу збудження литкового м'язу як за умов його прямого, так і непрямого подразнення (табл. 1), на фоні збільшення латентного періоду та зниження лабільності.

Таблиця 1 – Параметри збудження литкового м'язу за умов прямого та непрямого його подразнення в умовах експериментальної менопаузи, $M \pm m$

Подразнення	Параметри	Контроль	Тварини з експериментальною менопаузою	Різниця
Пряме	Поріг	0,17±0,03 мА (n=14)	0,07±0,01 мА (n=27) **	59 %
	Хронаксія	64,36±7,16 мкс (n=14)	47,32±3,56 мкс (n=27) *	27 %
Непряме	Поріг	0,045±0,0043 мА (n=14)	0,025±0,002 (n=27) ***	44 %
	Хронаксія	42,57±2,38 мкс (n=14)	54,32±2,82 (n=25) **	27 %

Примітка: рівень вірогідності * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$

Це, насамперед, може бути пов'язане зі зрушенням потенціалу залежності активації натрієвих каналів у бік деполяризації. (Hille B., 2001) через гіпокальціємію, обумовлену дефіцитом естрогенів (Маличенко С.Б. и др., 2008), а також зі зменшенням мембранного потенціалу спокою нервових волокон та м'язових клітин через порушення трансмембранного іонного градієнту, обумовлене зниженням активності Na^+/K^+ -АТФази в умовах порушення кровопостачання (Владимиров Ю.А., 2000), викликаного низьким рівнем естрогенів (Митрохина Т.В., 2012).

При нанесенні на сідничний нерв стимулів зростаючої інтенсивності (від 1,1 до 2 П) в групі тварин з експериментальною менопаузою спостерігався більш швидкий приріст амплітуди сумарної відповіді, особливо на проміжку від 1,2 П до 1,4 П (з різницею від 12,9 % до 20,78 %), у порівнянні з контрольною групою щурів ($p < 0,01$), що може вказувати на підвищення збудливості насамперед низькопорогових нейромоторних одиниць.

Однією з причин збільшення тривалості ЛП може бути демієлінізація рухових волокон м'якотного типу за умов нестачі естрогенів та прогестинів (Baulieu E.E., 2000; Paul M.R. et al., 2003), а також уповільнення вивільнення медіатору з пресинаптичних закінчень через гіпокальціємію (Маличенко С.Б. и др., 2008) (табл. 2).

Таблиця 2 – Параметри відповіді литкового м'яза при його непрямому подразненні, $M \pm m$

Параметри	Контроль	Тварини з експериментальною менопаузою	Різниця
Латентний період	$0,77 \pm 0,068$ мс (n=16)	$1,11 \pm 0,065$ мс (n=27) ***	44 %
Тривалість	$6,45 \pm 0,43$ мс (n=15)	$5,76 \pm 0,39$ мс (n=23)	10 %
Амплітуда	$43,53 \pm 2,89$ мВ (n=15)	$39,12 \pm 2,99$ мВ (n=22)	10 %

Примітка: рівень вірогідності *** – $p < 0,001$

При непрямому подразненні парними стимулами з часовими інтервалами від 2 до 5 мс було виявлено достовірне ($p < 0,05$) зниження амплітуди відповіді на тестуючий стимул в групі тварин з експериментальною менопаузою (в середньому на 22 %), в порівнянні з контрольною групою. На інших часових інтервалах достовірних відмінностей між групами виявлено не було. Причиною може бути уповільнення відновлення трансмембранного іонного градієнту після фази деполяризації через зниження активності Na^+/K^+ -АТФази, що спостерігається за умов дефіциту естрогенів (Li Y. et al., 2011).

При застосуванні частотної стимуляції СН, за умов ЕМ спостерігалось більш раннє виникнення трансформації ритму (300 Гц) у порівнянні з тваринами контрольної групи (500 Гц). Пояснити це можна посиленням гомосинаптичної депресії через порушення аксонального транспорту, викликане дезорганізацією структури мікротрубочок за умов нестачі естрогенів (Unal D. et al., 2012), та зниженням синтезу ацетилхоліну через нестачу ацетилхолін-трансферази (Баби́чев В.Н., 2005; Johann S. et al., 2011),

що призводить до уповільнення процесів поповнення пулу медіатора в пресинаптичних закінченнях.

Дослідження біоелектричної активності інтернейронного пулу спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи. Відомо, що Ера особливо виражені в I, II та IV пластинках сірої речовини спинного мозку, і найбільш поширені в нижніх поперекових та крижових сегментах (Vanderhorst V.G. et al., 2005; Vanderhorst V.G. et al., 2009).

В контрольній групі тварин поріг виникнення ПДП, який оцінювався за появою АП, складав $0,71 \pm 0,09$ мкА ($n=13$). В групі тварин з експериментальною менопаузою цей показник достовірно збільшувався на 100 % ($1,42 \pm 0,21$ мкА, $n=16$, $p<0,001$). Хронаксія у тварин з ЕМ достовірно не змінювалась. ЛП виникнення ПДП у щурів контрольної групи становив $0,17 \pm 0,017$ мс ($n=13$), тоді як у тварин з експериментальною менопаузою тривалість ЛП зростала до 194,12 % у порівнянні з контролем ($0,33 \pm 0,02$ мс, $n=13$, $p<0,001$). Тривалість компонентів ПДП, що характеризують активність сегментарних інтернейронів, достовірних змін не зазнала. Аналіз амплітуди компонентів ПДП у тварин з ЕМ показав достовірне збільшення амплітуди N1, N2, N3 компонентів та Р-хвилі (табл. 3).

Таблиця 3 – Амплітуда компонентів ПДП СМ за умов ЕМ, $M \pm m$

Амплітуда	Контроль	Тварини з експериментальною менопаузою	Різниця
АП	$2,01 \pm 0,07$ мВ ($n=13$)	$2,06 \pm 0,17$ мВ ($n=13$)	1 %
N ₁ -компонент	$2,07 \pm 0,08$ мВ ($n=13$)	$2,28 \pm 0,06$ мВ ($n=13$)*	10 %
N ₂ -компонент	$2,03 \pm 0,06$ мВ ($n=13$)	$2,27 \pm 0,06$ мВ ($n=13$)*	12 %
N ₃ -компонент	$0,58 \pm 0,06$ мВ ($n=13$)	$0,86 \pm 0,04$ мВ ($n=13$)**	48 %
Р-хвиля	$0,57 \pm 0,04$ мВ ($n=13$)	$0,75 \pm 0,06$ мВ ($n=13$)*	31 %

Примітка: рівень вірогідності * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$

Збільшення амплітуди N-компонентів можна пояснити збільшенням збудливої глутаматергічної передачі при подразненні аферентних волокон за умов відсутності гальмівного впливу естрогенів на цей процес (Zhong Y.Q. et al., 2010).

Для дослідження зміни процесів пресинаптичного гальмування застосовували нанесення парних стимулів з різним міжстимульним інтервалом. При інтервалах від 2 до 3 мс спостерігалось достовірне ($p<0,01$) збільшення, а з 6 по 30 мс – пригнічення N1-компонента другого ПДП ($p<0,01$) (рис. 1).

Пригнічення на інтервалах 6 – 100 мс може говорити про активування пресинаптичного гальмування інтернейронів IV пластини сірої речовини (Szentagothai J., 1971), у тому числі з боку желатинозної субстанції, нейрони якої здебільшого беруть участь у формуванні Р-хвилі (Флоров А.К., 1966; Шугуров О.О., 2006) та збільшують частоту фонові імпульсації за умов відсутності естрогенного впливу (Zhong Y.Q. et al., 2010). На користь цього

говорить і відповідність проміжку з 6-ї по 100-ту мс тривалості позитивного компоненту першого ПДП, амплітуда якого у піддослідній групі була достовірно збільшена порівняно з контролем.

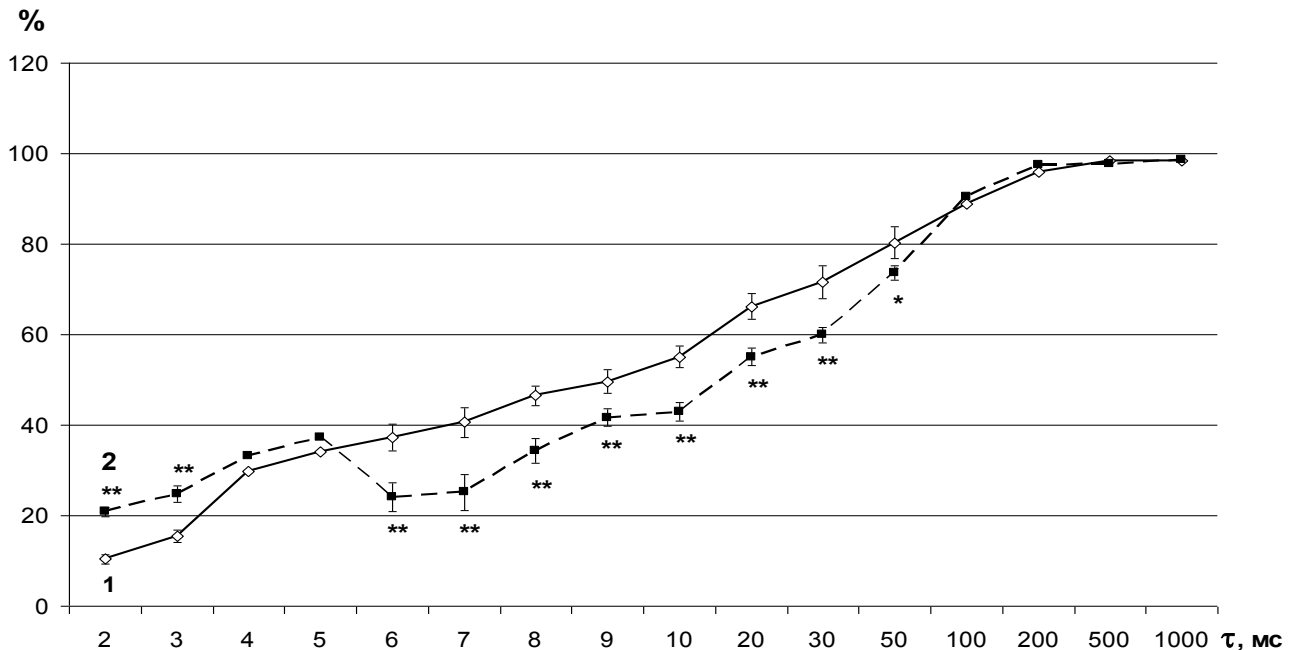


Рисунок 1 – Відновлення N₁-компоненту у контрольних тварин і тварин з експериментальною менопаузою при нанесенні парних стимулів. 1 – контрольна група; 2 – тварини з експериментальною менопаузою.

Рівень вірогідності: * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою

Причиною достовірного збільшення амплітуди N₁ компоненту другого ПДП при інтервалах 2 мс та 3 мс можна пояснити синаптичною потенціацією, а відсутність пригнічення на цих інтервалах пояснюється інерцією гальмівної "воротної" системи дорсальних рогів через наявність синаптичної затримки у міжнейронних з'єднаннях (Кукушкин М.Л., 2003).

Таким чином, сумарним ефектом тривало існуючого дефіциту естрогенів є переважання явищ збудження над гальмуванням та полегшення нервової передачі у структурах заднього рогу спинного мозку на високих частотах стимуляції дорсальних коренців, та виражене гальмування низькочастотної імпульсації.

Біоелектрична активність волокон вентрального та дорсального корінця спинного мозку за умов експериментальної менопаузи. Було виявлено значне зниження порогу виникнення відповіді волокон як ВК, так і ДК, на фоні збільшення хронаксії (табл. 4). Причиною підвищення збудливості може бути зрушення потенціалу активації натрієвих каналів у бік деполяризації (Hille B., 2001), обумовлене гіпокальціємією (Sreekantha T.G., et al., 2011), а також зменшення мембранного потенціалу спокою через енергетичний дефіцит (Владимиров Ю.А., 2000), викликаний ішемією нервових стовбурів за умов ЕМ (Маличенко С.Б. и др., 2008; Митрохина Т.В., 2012). Збільшення хронаксії, можливо, пов'язане із деструктивними змінами у

будові аксолеми внаслідок порушення організації мікротрубочок аксонів мієлінізованих волокон, що може негативно впливати на роботу Na^+ -каналів, збільшуючи значення корисного часу, потрібного для їх активації (Unal D. et al., 2012).

Таблиця 4 – Параметри збудження вентрального та дорсального корінця спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи, $M \pm m$

Корінець	Показник	Контроль	Тварини з експериментальною менопаузою	Різниця
Вентральний	Поріг	0,047 $\pm$ 0,003 мА (n=11)	0,026 $\pm$ 0,002 мА (n=11) **	45 %
	Хронаксія	57,27 $\pm$ 1,56 мкс (n=11)	65,91 $\pm$ 1,76 мкс (n=11) **	15 %
Дорсальний	Поріг	0,059 $\pm$ 0,001 мкА (n=12)	0,027 $\pm$ 0,002 мкА (n=14) **	55 %
	Хронаксія	65,83 $\pm$ 2,21 мкс (n=12)	75,50 $\pm$ 2,63 мкс (n=10) **	15 %

Примітка: рівень вірогідності ** – $p < 0,01$

Також було зафіксовано збільшення латентного періоду (табл. 5), причиною чого, можливо, є демієлінізація волокон (Baulieu E.E., 2000; Paul M.R. et al., 2003), а також ішемія нервових стовбурів (Маличенко С.Б. и др., 2008; Митрохина Т.В., 2012).

Таблиця 5 – Параметри потенціалу дії вентрального та дорсального корінця спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи, $M \pm m$

Корінець	Показник	Контроль	Тварини з експериментальною менопаузою	Різниця
Вентральний	Латентний період	0,61 $\pm$ 0,01 мс (n=11)	0,69 $\pm$ 0,01 мс (n=14) **	13 %
	Тривалість	2,39 $\pm$ 0,02 мс (n=11)	2,51 $\pm$ 0,02 мс (n=14)	5 %
	Амплітуда	4,16 $\pm$ 0,43 мВ (n=11)	4,71 $\pm$ 0,42 мВ (n=14) *	13 %
Дорсальний	Латентний період	0,61 $\pm$ 0,02 мс (n=11)	0,69 $\pm$ 0,016 мс (n=11) **	13 %
	Тривалість	2,49 $\pm$ 0,05 мс (n=11)	2,59 $\pm$ 0,05 мс (n=11)	4 %
	Амплітуда	2,13 $\pm$ 0,21 мВ (n=11)	2,80 $\pm$ 0,12 мВ (n=11) **	31 %

Примітка: рівень вірогідності * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Збільшення амплітуди викликаного потенціалу дії ДК можна пояснити збільшенням вхідних кальцієвих токів гангліонарних нейронів через відсутність інгібуючого впливу на АТФ-індуковану Ca^{2+} сигналізацію 17β -естрадіола в умовах ЕМ (Papka R.E. et al., 2003; Chaban V.V. et al., 2005; Ma B. et al., 2007).

При нанесенні подвійних подразнень було виявлено значне запізнення

відновлення амплітуди викликаної відповіді на тестуючий стимул у тварин з оваріогістеректомією, більш виражене для ДК (рис. 2). Це можна пояснити зниженням активності Na^+/K^+ -АТФази, і як наслідок, уповільненням відновлення нормального трансмембранного градієнту іонів після збудження мембрани (Li Y. et al., 2011).

Таким чином, за умов раннього виникнення та тривалого існування дефіциту естрогенів, спостерігається підвищення збудливості та інтенсивності викликаних відповідей нейронів спінальних гангліїв на фоні погіршення часових характеристик та зниження лабільності.

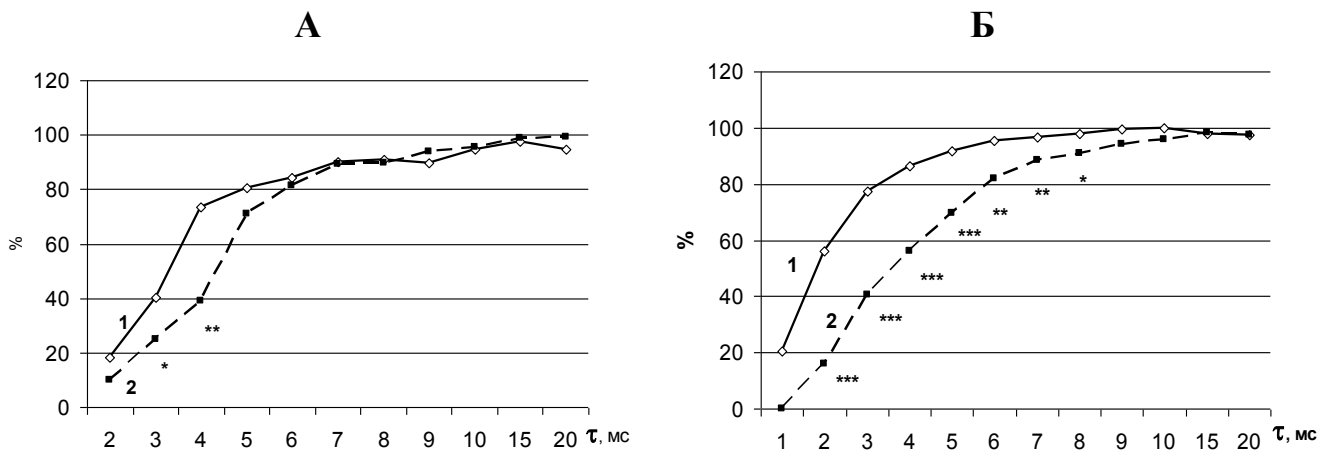


Рисунок 2 – Динаміка фаз рефрактерності викликаних відповідей вентрального корінця (А) та дорсального корінця (Б) спинного мозку у контрольних тварин (1) і тварин з експериментальною менопаузою (2). Рівень вірогідності * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою

Моносинаптичні відповіді вентральних корінців спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи є показником роботи мотонейронного апарату та синаптичної передачі. Поріг виникнення МР ВК у тварин з ЕМ зменшувався до $54,17 \pm 19,8$ % ($p < 0,05$, $n=10$) по відношенню до показника контрольної групи тварин, що в абсолютних значеннях становило $1,30 \pm 0,26$ мкА та $2,40 \pm 0,35$ мкА ($n=11$) відповідно. Це обумовлено підвищенням збудливості дорсальних коренців, про що свідчать наші попередні дослідження. Хронаксія у групі з ЕМ збільшилася порівняно з контролем на $7,24 \pm 1,38$ % ($p < 0,05$, $n=10$) ($97,50 \pm 1,35$ мкс та $90,91 \pm 2,59$ мкс ($n=11$) відповідно). Також було виявлено вкорочення ЛП та збільшення амплітуди викликаних відповідей за умов ЕМ (табл. 6). Причиною зменшення тривалості ЛП МР ВК може бути пришвидшення вивільнення медіатора через підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію у нейронах гангіїв ДК (Chaban V.V. et al., 2005; Ma B. et al., 2007). Внутрішньоклітинний кальцій стимулює синтез ретроградного месенджера (NO), який підсилює викид медіатора глутамату з пресинаптичного закінчення (Кукушкин М.Л., 1999), що може пояснити збільшення амплітуди МР ВК.

Таблиця 6 – Параметри моносинаптичних розрядів вентрального корінця спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи, $M \pm m$

Параметри	Контроль	Тварини з експериментальною менопаузою	Різниця
Латентний період	$0,89 \pm 0,035$ мс (n=11)	$0,76 \pm 0,02$ мс (n=10)*	15 %
Тривалість	$1,23 \pm 0,04$ мс (n=11)	$1,33 \pm 0,03$ мс (n=10)*	8 %
Амплітуда	$1,45 \pm 0,086$ мВ (n=11)	$1,85 \pm 0,07$ мВ (n=10)**	28 %

Примітка: рівень вірогідності * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

При нанесенні парних подразнень у тварин з ЕМ спостерігалось більш повільне відновлення амплітуди відповіді на тестуючий стимул при інтервалах нанесення до 100 мс (рис. 3).

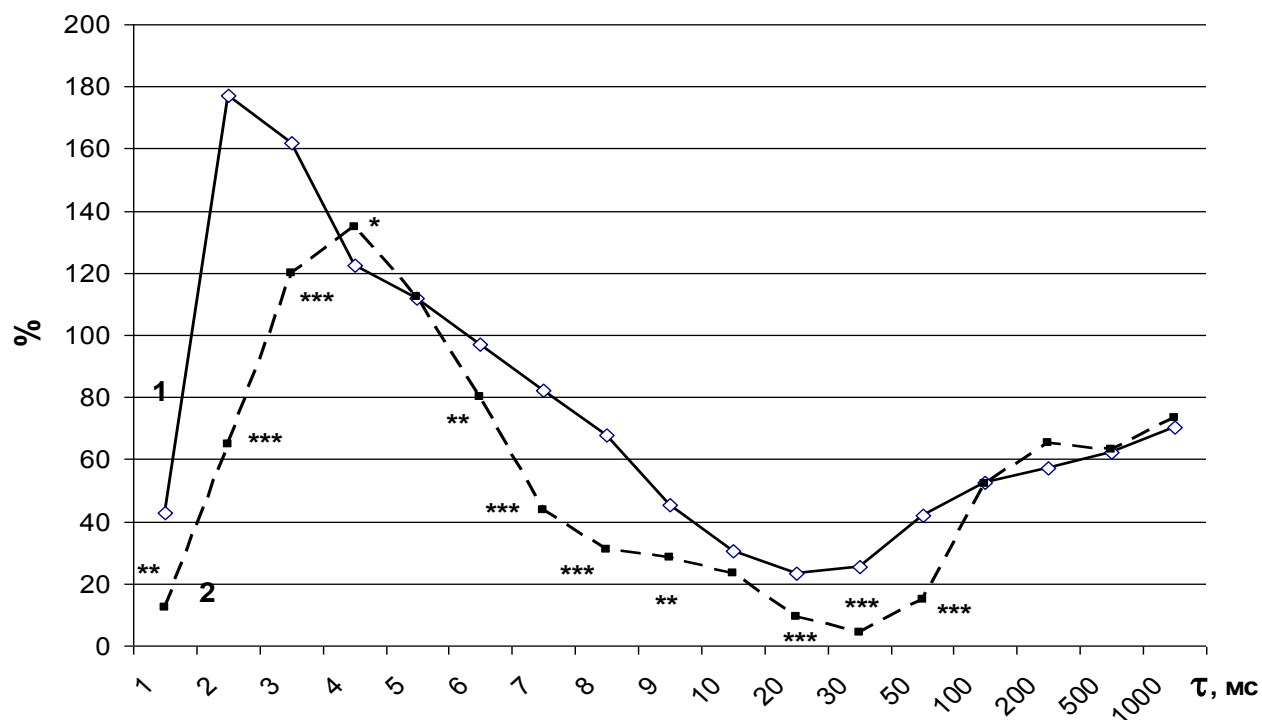


Рисунок 3 – Характер гальмування моносинаптичних рефлексорних відповідей вентрального корінця спинного мозку на тестуючий стимул.

1 – контрольна група, 2 – група тварин з експериментальною менопаузою.

Рівень вірогідності * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою

Це може бути пов'язане з посиленням пресинаптичного гальмування в інтернейронах дорсального рогу СМ (Родинський О.Г., Ткаченко С.С., 2015) на проміжку 6 мс – 100 мс, що може сприяти зменшенню сегментарної моторної еферентації, а отже і пояснити зменшення амплітуди другого викликаного МР ВК при вказаних міжстимульних інтервалах.

Можливості медикаментозної корекції модифікацій біоелектричної активності нервово-м'язового комплексу та волокон вентрального корінця спинного мозку за умов експериментальної менопаузи. Дані тварин з ЕМ після 10 денного курсу введення Цитофлавіну порівнювались з даними групи тварин з ЕМ до застосування препарату (контрольна група).

Величина порогу збудження литкового м'яза при непрямій стимуляції у тварин піддослідної групи, в порівнянні з контролем, збільшувалася на 120 % ($p < 0,01$) ($0,025 \pm 0,002$ мА, ($n=27$) та $0,055 \pm 0,004$ мА ($n=14$) відповідно), що наближалось до значення у тварин зі збереженими яєчниками. За умов прямого подразнення порог збудження м'язу становив $0,13 \pm 0,008$ мА ($n=14$), що на $85,71 \pm 6,15$ % перевищувало значення у контрольній групі ($0,07 \pm 0,01$ мА, $n=27$, $p < 0,01$). Хронаксія та амплітудно-часові характеристики викликаних ПД достовірних змін не зазнали.

Позитивні зрушення в енергопостачанні субклітинних структур під впливом антиоксидантних та антигіпоксантих компонентів препарату Цитофлавін може призводити до покращення роботи $3Na^+/2K^+$ -АТФази та відновлення трансмембранного іонного градієнту з нормалізацією величини потенціалу спокою, а отже й збудливості (Владимиров Ю.А., 2000). Свідомством цього є збільшення порогу виникнення викликаних ПД як при прямому, так і непрямому подразненні литкового м'яза.

В групі тварин, де застосовувалась фармакологічна корекція, при нанесенні на сідничний нерв стимулів зростаючої інтенсивності (від 1,1 до 2 П) спостерігалось більш повільне зростання амплітуди сумарної відповіді на проміжку 1,2 П – 1,4 П (у середньому на 20 % відносно значення амплітуди при подразненні стимулом 2 П), у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,01$), що може вказувати на зниження збудливості в першу чергу низькопорогових нейромоторних одиниць у складі нервово-м'язового комплексу. При застосуванні стимуляції СН подвійними імпульсами та їх пачками достовірних змін між контрольною групою та групою тварин, що отримували препарат корекції, зафіксовано не було.

З метою з'ясування ролі еферентних нервових волокон сідничного нерва у виникненні виявлених позитивних змін біоелектричної активності нервово-м'язового комплексу, було додатково проведено дослідження викликаної біоелектричної активності волокон ВК СМ після застосування препарату корекції за умов ЕМ. Величина порогу виникнення ПД та амплітуда відповіді суттєвих змін не зазнавала. Хронаксія виникнення ПД ВК достовірно ($p < 0,05$) зменшувалась і дорівнювала $60,08 \pm 0,88$ мс, що на $8,85 \pm 1,46$ % менше показника щурів контрольної групи ($65,91 \pm 1,76$ мс). Латентний період і загальна тривалість ПД ВК, викликаних супрамаксимальною стимуляцією волокон сідничного нерва (5 П), зменшувалися на чверть відносно значень контрольної групи, відповідно (табл. 7). На нашу думку, пояснити це можна більш швидким трансмембранним іонним обміном у стані збудження, а також відновлення вихідного іонного складу у середині клітини та за її межами через відновлення нормального функціонування іонних транспортних систем,

обумовлене покращенням енергетичного забезпечення завдяки антигіпоксантичним ефектам рибоксину та нікотинаміду, а також стимулюючого впливу бурштинової кислоти на цикл трикарбонових кислот, та пригнічення руйнуючої дії вільних радикалів завдяки антиоксидантним властивостям компонентів препарату "Цитофлавін".

Таблиця 7 – Параметри потенціалу дії волокон вентрального корінця до та після введення препарату корекції, $M \pm m$

Параметри	Без корекції	Після корекції	Різниця
Латентний період	0,69 $\pm$ 0,01 мс (n=14)	0,53 $\pm$ 0,014 мс (n=12) **	23 %
Тривалість	2,51 $\pm$ 0,02 мс (n=14)	1,77 $\pm$ 0,06 мс (n=12) **	29 %
Амплітуда	4,71 $\pm$ 0,42 мВ (n=14)	4,93 $\pm$ 0,36 мВ (n=12)	5 %

Примітка: рівень вірогідності ** – $p < 0,01$

При цьому міг виникнути переросподіл іонів Ca^{2+} між позаклітинним простором та цитоплазмою, з перевагою останньої за рахунок пресинаптичної частини нервово-м'язових синапсів та м'язових клітин. На фоні гіпокальціємії, цей додатковий відносний дефіцит кальцію міг сприяти підтримці зниженого рівня мембранного потенціалу спокою, зберігаючи таким чином високу збудливість нервових волокон. До того ж інші можливі причини зниження рівня потенціалу відкриття потенціалзалежних іонних Na^{+} -каналів плазмолемі нейритів, такі як модифікація структури мембрани через порушення фізичної організації мікротубулярного скелету волокон в умовах тривалої гіпоестрогенемії, усунені не були. Саме тому вплив препарату корекції на збудливість відбувся саме у м'язових клітинах, залишаючи без змін нервові провідники.

При нанесенні подвійних подразнень спостерігалось більш раннє відновлення амплітуди відповіді на тестуючий стимул у тварин, що отримували фармакологічну коррекцію, на інтервалах від 3 до 5 мс та складало відповідно 149,31 $\pm$ 6,29 %, 174,50 $\pm$ 2,35 % ($p < 0,05$) та 111,24 $\pm$ 1,79 % ($p > 0,05$). Пояснити це можна нормалізацією роботи трансмембранних транспортних систем під впливом компонентів препарату корекції, а, отже, і більш швидкому відновленню іонного градієнту після генерації ПД (Владимиров Ю.А., 2000), що й проявило себе у збільшенні лабільності еферентних нервових волокон СН. Таким чином, доцільним буде припущення, що нормалізація збудливості нервово-м'язового комплексу відбулося саме на рівні м'язових клітин.

ВИСНОВКИ

На основі комплексного дослідження виконане наукове завдання, яке полягало у розкритті особливостей функціонування компонентів сегментарної рефлекторної дуги спинного мозку у віддалених строках експериментальної менопаузи.

1. Доведено виражене підвищення збудливості нервово-м'язового апарату, переважно за рахунок низькопорогових нейромоторних одиниць, що

проявляється у зменшенні порогу збудження як при непрямому (на 44 %, $p<0,05$), так і прямому подразненні (на 59 %, $p<0,01$) литкового м'язу на фоні подовження латентного періоду (на 44 %, $p<0,001$) та періодів рефрактерності. Зі сторони нервово-м'язових синапсів спостерігається посилення явища гомосинаптичної депресії зі зниженням лабільності до 300 Гц. Останнє може вносити свій вклад у виникнення м'язової слабкості на пізніх строках існування патологічного стану.

2. Виявлено, що в умовах експериментальної менопаузи активність інтернейронного апарату спинного мозку підвищується, насамперед, за рахунок несегментарних інтернейронів та нейронів желатинозної субстанції при одночасному зростанні пресинаптичного гальмування первинних аферентів. Сумарним ефектом є полегшення передачі височастотних сигналів (понад 250 Гц) та гальмування низькочастотних (10 – 170 Гц). Перелічені зміни можуть лежати в основі розвитку парастезій та гіпералгезії різної локалізації, що виникають у віддалених строках менопаузи.

3. Встановлено, що у віддалених термінах експериментальної менопаузи підвищується збудливість аферентних та еферентних волокон сідничного нерва, що проявляється у зниженні порогу виникнення збудження на 45 % та 55 % відповідно ($p<0,01$), на фоні збільшення хронаксії, подовження латентного періоду та фаз рефрактерності, наслідком чого є зниження лабільності, особливо структур дорсального корінця (до 125 Гц).

4. За умов тривало існуючої експериментальної менопаузи відбувається підвищення збудливості мотонейронів, про що свідчить зниження порогу виникнення збудження на 46 % ($p<0,05$), та збільшення їх біоелектричної активності із зростанням інтегральної амплітуди потенціалу дії на 28 % ($p<0,01$). Разом з тим спостерігається обмеження викликаної моторної еферентації на частотах понад 10 Гц, ймовірно, за рахунок поглиблення пресинаптичного гальмування з боку інтернейронного пулу дорсальних рогів спинного мозку.

5. Після застосування метаболічного препарату з антиоксидантними та антигіпоксантами властивостями спостерігалось значне зниження збудливості нервово-м'язового комплексу, переважно за рахунок низькопорогових нейромоторних одиниць, та підвищення лабільності еферентних волокон сідничного нерва. Перелічені позитивні зміни можуть свідчити на користь висунутої гіпотези щодо участі у модифікації часових параметрів гіпоксії нервових структур та м'язів, обумовленої тривалою гіпоестрогенемією. Отже, тестований препарат може бути використаний як один з компонентів комплексного лікування та профілактики віддалених нейропатичних ускладнень ранньої менопаузи.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. 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. *Дисертантом проведено експериментальну частину з дослідження активності нервово-м'язового апарату, аналіз даних та написано текст статті.*

2. Родинський О.Г. Активність інтернейронних пулів спинного мозку за умов експериментальної менопаузи / О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко // Фізіологічний журнал *. – 2015. – Т. 61, № 5. – С. 28–34. *Дисертантом проведено експериментальну частину з дослідження активності інтернейронних пулів СМ, аналіз даних, а також написано текст статті.*

3. Родинський О.Г. Моносинаптичні відповіді вентральних корінців спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи / О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко, Л.В. Гузь // Клінічна та експериментальна патологія *. – 2015. – Т. 54, № 4. – С. 128–132. *Дисертантом проведено експериментальне дослідження активності вентральних корінців, аналіз даних, написано текст статті.*

4. Родинський О.Г. Викликана біоелектрична активність еферентних волокон сідничного нерва білих щурів за умов експериментальної менопаузи / О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко, Л.В. Гузь // Медичні перспективи *. – 2016. – Т. 21, № 1. – С. 4–9. *Дисертантом проведено експериментальне дослідження активності еферентних волокон, аналіз даних, написано текст статті.*

5. Родинський О.Г. Викликана біоелектрична активність аферентних волокон сідничного нерва білих щурів за умов експериментальної менопаузи / О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко, А.В. Мозгунов // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2016. – № 1. – С. 7–12. *Дисертантом проведено експериментальну частину з дослідження активності аферентних волокон, аналіз даних, а також написано текст статті.*

6. Родинський О.Г. Вплив цитофлавіну на біоелектричну активність нервово-м'язового комплексу в умовах експериментальної менопаузи. / О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко, О.Г. Зинов'єва // Здобутки клінічної і експериментальної медицини *. – 2016. – № 2. – С. 74–78. *Дисертантом проведено експериментальну частину дослідження, аналіз даних, написано текст статті.*

7. Пат. 104390 Україна, МПК G09B 23/36. Операційний стіл-стенд для електрофізіологічних досліджень на лабораторних тваринах [Текст] / Ткаченко С.С., Родинський О.Г. (Україна). заявник і власник Ткаченко С.С., Родинський О.Г. – № а 201302799; заявл. 05.03.2013; опубл. 27.01.14 Бюл. № 2. – 3 с. *Дисертантом виконано патентний пошук, розробка конструкції пристрою, формули винаходу, виготовлення робочого екземпляру пристрою.*

8. Пат. 83729 Україна, МПК A61N 1/36. Електронний стимулятор [Текст] / Ткаченко С.С., Родинський О.Г. (Україна). заявник і власник Ткаченко С.С., Родинський О.Г. – № u 2013 04177; заявл. 03.04.2013; опубл. 25.09.13 Бюл. № 18. – 4 с. *Дисертантом виконано патентний пошук, розроблено конс-*

* – статті, надруковані у виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз

трукцію пристрою, формулу корисної моделі, виготовлення робочого екземпляру пристрою.

9. Родинський О.Г. Вплив дефіциту естрогенів на збудливість нервово-м'язового комплексу / О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко, О.В. Мозгунов // Матеріали VI конгресу Українського товариства нейронаук. – Київ. – 2014. – С. 102. *Дисертантом проведено експериментальну частину з дослідження активності нервово-м'язового апарату, аналіз даних, а також написано текст тез.*

10. Родинський О.Г. Зміна збудливості рухових волокон сідничного нерва білих щурів за умов тривалої гіпоестрогенемії. Матеріали I Міжнародної заочної науково-практичної конференції «Проблеми, досягнення та перспективи розвитку медико-біологічних і спортивних наук» / О.Г. Родинський, С.С. Ткаченко, О.Г. Зинов'єва // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2015. – № 2. – 169–171. *Дисертантом проведено експериментальну частину з дослідження активності еферентних волокон СН, написано текст статті.*

АНОТАЦІЯ

Ткаченко С.С. Електрофізіологічний аналіз активності рефлексорних дуг спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом 14.03.03 – нормальна фізіологія. – Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, Львів, 2016.

У роботі досліджено біоелектричну активність різних ділянок сегментарної рефлексорної дуги спинного мозку в умовах експериментальної менопаузи. Було виявлено суттєве підвищення збудливості нервових волокон та нервово-м'язового комплексу на фоні зниження лабільності та посилення явища гомосинаптичної депресії, підвищення фонові активності нейронів задніх рогів спинного мозку та полегшення нервової передачі високочастотних сигналів при одночасному збільшенні гальмування первинних аферентів. Виявлено підвищення збудливості мотонейронів спинного мозку та збільшенні їх біоелектричної активності з обмеженням викликані моторної еферентації на частотах понад 10 Гц. Використання метаболічного препарату Цитофлавін нормалізує збудливість нервово-м'язового апарату, а також сприяє нормалізації часових параметрів викликаних відповідей еферентних волокон сідничного нерва.

Ключові слова: експериментальна менопауза, нейропатія, спинний мозок, інтернейрон, мотонейрон, дорсальні корінці, вентральні корінці.

АННОТАЦИЯ

Ткаченко С.С. Электрофизиологический анализ активности рефлексорных дуг спинного мозга в условиях экспериментальной менопаузы. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – нормальная физиология. – Львовский национальный медицинский университет им. Данилы Галицкого, Львов, 2016.

В работе исследовали биоэлектрическую активность различных участков сегментарной рефлекторной дуги спинного мозга в условиях экспериментальной менопаузы. Моделирование менопаузы выполнялось путем тотальной овариогистеректомии самок белых крыс линии Вистар возрастом 5–6 месяцев под общей анестезией Тиопенталом натрия 5 мг / 100 г веса. Животным контрольной группы проводили лапаротомию без удаления яичников. Через 120 дней содержания в стандартных условиях вивария выполнялась верификация модели путем цитологического исследования влагалищных мазков и определения уровня 17β -эстрадиола в плазме крови, затем проводился острый эксперимент согласно программы исследований. Раздражение осуществлялось биполярно одиночными, сдвоенными электрическими импульсами прямоугольной формы длительностью 0,3 мс и амплитудой 1 – 5 порогов, а также их пачками. Изучали порог возникновения возбуждения, хронаксию, латентный период и амплитудно-временные характеристики вызванных ответов. Для изучения динамики вовлечения в возбуждение разнопороговых структур использовали стимулы увеличивающейся интенсивности от 1 П до 2 П. Парные импульсы использовались для изучения рефрактерности и лабильности. Показано, что ранняя и длительно существующая недостаточность эстрогенов существенно влияет на процессы возбудимости и проводимости во всех звеньях сегментарной рефлекторной дуги, преимущественно за счет низкопороговых элементов, существенно повышая возбудимость нервных волокон и нервно-мышечного комплекса на фоне снижения лабильности и усиления явления гомосинаптической депрессии, вносит дисбаланс в работу интернейронного аппарата спинного мозга путем повышения фоновой активности нейронов задних рогов спинного мозга, в частности, желатинозной субстанции, и облегчения нервной передачи высокочастотных (свыше 250 Гц) сигналов при одновременном увеличении пресинаптического торможения первичных афферентов, что может лежать в основе возникновения парестезий и гипералгезий различной локализации. Дефицит эстрогенов также способствует повышению возбудимости мотонейронов спинного мозга и увеличению их биоэлектрической активности вместе с ограничением вызванной моторной эфферентации на частотах свыше 10 Гц за счет усиления явлений гомосинаптической депрессии в межнейронных синапсах, доказательством чего является угнетение вызванного ответа на тестирующий стимул при межстимульном интервале от 2 до 5 мс, и тормозного влияния со стороны интернейронного пула дорсальных рогов спинного мозга, о чем свидетельствует снижение амплитуды второго потенциала действия при интервалах 6 – 100 мс. Перечисленные изменения могут быть причиной развития мышечного напряжения и мышечной слабости в отдаленных сроках ранней менопаузы. Использование комбинированного препарата Цитофлавин,

являющегося комплексом янтарной кислоты, никотинамида, рибоксина и рибофлавина с антиоксидантным и антигипоксантным действием, оказывает положительное влияние на процессы возбудимости в нервно-мышечном аппарате в виде снижения возбудимости, преимущественно за счет мышечных волокон и нервно-мышечного синапса, поскольку порог возбуждения нервных волокон после проведенной фармакологической коррекции остался достаточно низким, хоть и выказал тенденцию к повышению, а также способствует нормализации временных параметров вызванных ответов эфферентных волокон седалищного нерва, следствием чего было повышение их лабильности на частотах свыше 200 Гц. Выбор метаболотропного препарата для фармакологической коррекции выявленных неврологических нарушений продиктован невозможностью применения заместительной гормональной терапии у пациентов с овариогистеректомией по поводу опухолевого поражения органов репродуктивной системы. Кроме того, положительное влияние препарата с антигипоксантным действием может служить доказательством весомого вклада гипоксии нервной ткани в развитие менопаузальной нейропатии.

Ключевые слова: экспериментальная менопауза, нейропатия, спинной мозг, интернейрон, мотонейрон, дорсальные корешки, вентральные корешки.

SUMMARY

Tkachenko S. Electrophysiological analysis of the activity of the spinal cord reflex arcs in experimental menopause. – On the right of the manuscript.

Dissertation for the degree of candidate of medical sciences on the specialty 14.03.03 – normal physiology. – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, 2016.

In this work, it has been studied the bioelectric activity of different parts of segmental spinal reflex arc in experimental menopause. It was found a significant increase in the excitability of nerve fibers and the neuromuscular complex amid falling lability and amplification phenomena homosynaptic depression, increasing the background activity of neurons posterior horns of the spinal cord and to facilitate neural transmission of high frequency signals while increasing inhibition of primary afferents. Revealed an increase in excitability of the spinal motor neurons and increase their bioelectrical activity with restriction of induced efference at frequencies above 10 Hz. Using metabolic Citoflavin drug normalises excitability of the neuromuscular system, and also helps to normalize timing of responses caused by the efferent fibers of the sciatic nerve.

Keywords: experimental menopause, neuropathy, spinal cord, interneurons, motoneurons, dorsal roots, ventral roots.

Підписано до друку 08.11.16 р. Формат 60 X 90/16.
Умовних друкар., арк. 0,9. Обл. – вид., арк., 0,9. Друк ризографія.
Тираж 100 пр. Замовлення № 98

Надруковано ВТК «Друкар» ДЗ «ДМА МОЗУ»
м. Дніпро, пл. Соборна, 4