

ВИКЛИКАНА АКТИВНІСТЬ ЕФЕРЕНТНИХ ВОЛОКОН СІДНИЧНОГО НЕРВА ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

(м. Дніпропетровськ)

Робота виконана у межах НДР кафедри фізіології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» у рамках теми «Механізми адаптивних реакцій центральних та периферичних відділів нервової системи за нормальних та патологічних умов», № держ. реєстрації 0111U002789.

Вступ. Діабетична невропатія (ДН), яка супроводжує цукровий діабет (ЦД), є одним з найпоширеніших та найнебезпечніших його ускладнень, яке охоплює як периферичні, так і центральні структури нервової системи, зокрема, спинного мозку (СМ) [16, 17]. Розвиток даних ускладнень пов'язують з недостатнім глікемічним контролем, за якого спостерігаються коливання вмісту глюкози крові протягом доби, як від дуже низького так і до надто високого рівня, що, в свою чергу, негативно впливає на нервову систему [14]. Більшість дослідників відзначають розвиток ДН у людей протягом кількох років від початку захворювання [1, 2, 9, 15], але в експериментальних дослідженнях показано розвиток невропатії вже на ранніх термінах (дані коливаються від кількох тижнів до кількох місяців) [17, 19]. У наших попередніх дослідженнях було продемонстровано, що ДН розвивається вже через 1 місяць від початку гіперглікемії, як у периферичному нервово-м'язовому апараті [11], так і порушує функціонування аферентної ланки рефлекторної дуги СМ [10].

У літературі особливо яскраво висвітлюється сенсорна ДН, але мало уваги приділяють розвитку моторної невропатії, тож дана проблема є найменш вивченою, в особливості функціональний стан еферентних волокон (вентрального корінця СМ).

Метою даного дослідження було вивчення біоелектричної активності еферентних волокон сідничного нерва в умовах експериментального ЦД через один місяць від початку розвитку захворювання.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження були проведені на 24 молодих статевозрілих білих щурах-самцях вагою 180-240 г.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург,

1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

ЦД моделювали шляхом одноразового інтраперитонеального введення алоксану моногідрату (вир. Sigma, США) у дозі 170 мг/кг після добової депривації їжі при збереженому доступі до води. Докладніше методика моделювання було описано у наших попередніх дослідженнях [10]. Верифікацію моделі ЦД проводили за допомогою вимірювання рівня глюкози крові (за допомогою глюкометра One Touch Ultra). Також провели морфологічне дослідження тканини підшлункової залози. При аналізі гістологічних зрізів, забарвлених гематоксином і еозином за стандартними морфологічними методиками [4, 7] у тварин з ЦД було виявлено набряк міждолькової сполучної тканини, у острівцях Лангерганса відмічено розвиток помірної лімфоцитарної інфільтрації, а у їх центральних зонах – некроз клітин, у той же час на периферії острівців спостерігалася гіпертрофія. У гострий експеримент тварин брали на 30 добу з рівнем глюкози вищим за 15 ммоль/л.

Методику гострого експерименту було докладно описано у наших попередніх дослідженнях [10, 12]. Відведення викликаної активності проводили від пересічених проксимальних відрізків вентральних корінців (ВК) біля входу до СМ на рівні L₅-сегменту при стимуляції сідничного нерва на боці відведення (волокна нерва подразнювали за допомогою срібних біполярних електродів прямокутними імпульсами тривалістю 0,3 мс та силою від 1 до 5 порогів (П). Відведення ПД проводилося за допомогою біполярних електродів з реєстрацією на персональний комп'ютер за допомогою аналогово-цифрового перетворювача. Аналізували параметри потенціалу дії (ПД) ВК: поріг (П), хронаксія, латентний період (ЛП), амплітуду та тривалість ПД. Аналіз динаміки збудливості проводили шляхом нанесення на сідничний нерв стимулів зростаючої інтенсивності (від 1, 1 П до 2 П), явище рефрактерності досліджували за допомогою нанесення парних стимулів з інтервалом від 2 до 20 мс.

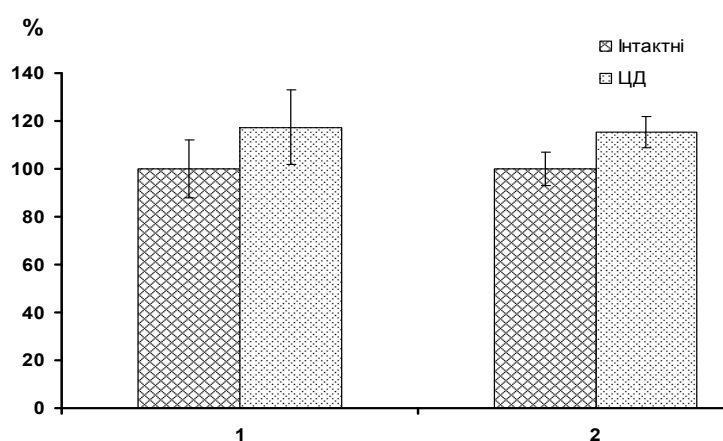


Рис. 1. Середні значення порогу (1) та хронаксії (2) потенціалу дії ВК (L_5) СМ у інтактних тварин та тварин з експериментальним цукровим діабетом.

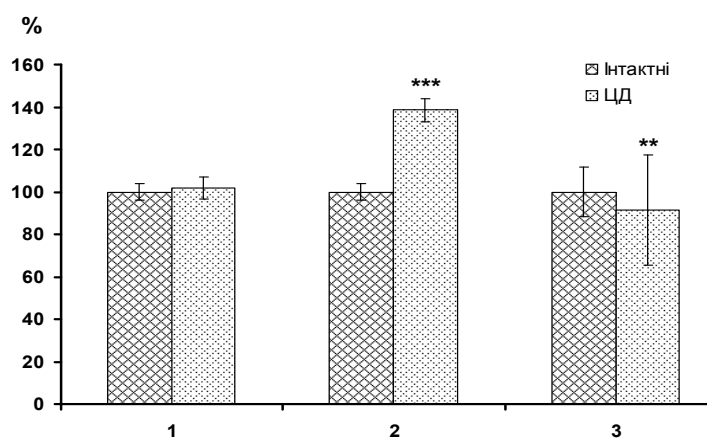


Рис. 2. Середні значення латентного періоду (1), тривалості (2) і амплітуди (3) потенціалу дії ВК (L_5) СМ у інтактних тварин та тварин з експериментальним цукровим діабетом.

Примітка: Рівень достовірності ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Статистичну обробку масивів даних проводили за допомогою розрахунку показників наочності у відсотках, середнього арифметичного (M), похибки середнього (m). Достовірність даних оцінювали за допомогою методів параметричної (критерій Стьюдента) та непараметричної статистики (критерій Манна-Уїтні), дані вважали достовірними при $p < 0,05$ [8].

Результати досліджень та їх обговорення. Зміни показників ПД ВК при експериментальному ЦД оцінювали по відношенню до показників контрольної групи тварин, які приймали за 100%.

Аналіз порогу виникнення ПД ВК показав, що у тварин контрольної групи даний показник складав $11,5 \pm 1,4$ мкА ($n = 12$), у групі тварин з ЦД даний показник підвищувався на 17%, що в абсолютних цифрах становило $13,50 \pm 2,10$ мВ ($n = 11$, $p > 0,05$). Хронаксія ПД ВК контрольної групи становила $61,07 \pm 4,32$ мкс ($n = 12$), у тварин з ЦД даний показник збільшувався на 15% ($70,45 \pm 4,75$ мкс, $n = 11$, $p > 0,05$) (рис 1).

Виявлена нами тенденція до підвищення порогу виникнення ПД ВК може бути наслідком насичення мієлінової оболонки нерва продуктами гліколізу, який за умов ЦД протікає

за альтернативним поліоловим шляхом з накопиченням недоокислених продуктів, таких як сорбітол та фруктоза, які, у свою чергу, просочують мієлінову оболонку периферичних нервових волокон та викликають її набряк, оскільки належать до осмотично активних молекул [5, 20]. З огляду на те, що нами не було виявлено достовірних змін хронаксії можна припустити, що за умов ЦД волокна переднього корінця, який в основному складається з мієлінізованих волокон типу А, страждають менше ніж волокна, що входять до складу заднього корінця [13].

При нанесенні на сідничний нерв подразника супрамаксимальної сили (5П) були отримані наступні дані: латентний період ПД ВК становив $0,754 \pm 0,03$ мс, тривалість ПД – $1,56 \pm 0,06$ мс, амплітуда – $2,14 \pm 0,25$ мВ. У тварин з ЦД ЛП змінювався несуттєво по відношенню до показників контрольної групи (збільшувався лише на 2%, $p > 0,05$, $n = 10$), амплітуда ПД ВК збільшувалася на 39% ($p < 0,001$, $n = 10$), тривалість ПД зменшувалася на 8% ($p < 0,01$, $n = 9$) (рис. 2).

Знайдене нами збільшення тривалості ПД опосередковано характеризує стан провідності у моторних волокнах, яке має тенденцію до погіршення за умов гіперглікемії, на що вказують деякі дослідники при аналізі електроміограми у людей з моторним та сенсорним дефіцитом та іншими ознаками ДН [3, 22]. Так і у дослідженнях з визначення швидкості проведення по моторних волокнах [21], деякими дослідниками [19] було виявлено деструкцію мітохондрій, накопичення в аксоплазмі мембранозних матеріалів, а також зменшення діаметру нервових волокон, що може призводити до порушення енергетичного балансу і, як наслідок, зменшення швидкості проведення по нерву. Інші дослідники на 5-му тижні захворювання також виявляли зменшення діаметру аксона [18], що, на їхню думку, може бути наслідком порушення аксонного транспорту структурних білків внаслідок осмотичного зморщування. Ще однією з гіпотез є погіршення активності $Na^+ / K^+ -ATP$ -ази при гіперглікемії за рахунок зниження запасів міоїнозиту, що призводить до інтрааксонального накопичення Na^+ , і, в кінцевому результаті, до порушення передачі нервового імпульсу [5]. Пошкодження еферентних волокон може тривалий час маскуватися компенсаторною реіннервацією [6].

При аналізі динаміки збудливості за допомогою використання методу нанесення на сідничний нерв стимулів зростаючої

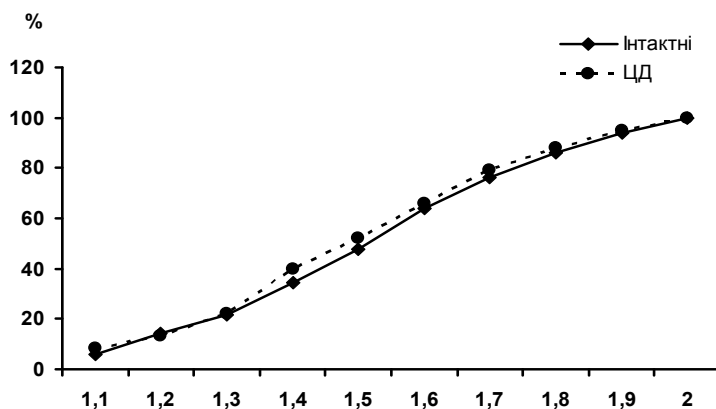


Рис. 3. Характеристика викликаних відповідей вентрального корінця спинного мозку (L_5) у інтактних тварин і тварин з експериментальним цукровим діабетом за умов нанесення стимулів зростаючої інтенсивності.

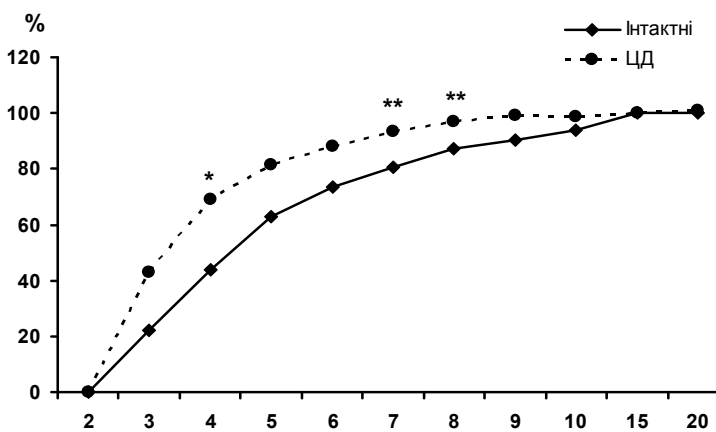


Рис. 4. Характеристика викликаних відповідей вентрального корінця спинного мозку (L_5) у інтактних тварин і тварин з експериментальним цукровим діабетом – за умов нанесення парних стимулів.

Примітка: Рівень достовірності * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$.

інтенсивності (від 1,1 до 2 П) не було виявлено суттєвих змін (рис. 3).

При аналізі гальмівних процесів, які протікають у вентральному корінці нами було використано метод

нанесення парних стимулів (міжстимульний інтервал від 2 до 20 мс). У даному блоці дослідження також не було виявлено достовірних змін, але спостерігалася тенденція до збільшення амплітуди у відповідь на 2-й стимул (рис. 4).

Виявлена нами тенденція до підвищення амплітуди ПД у відповідь на нанесення подвоєних стимулів, ймовірно, може бути наслідком феномену подовженої мото-нейронної активності – нейроміотонії, яка зустрічається при демієлінізуючих нейропатіях, при цьому зони демієлінізації можуть стимулювати виникнення зон гіперзбудливості, а повторні розряди виникають саме з цих патологічних ділянок [6]. У цих же дослідженнях відмічають, що у молодому віці переважають демієлінізуючі процеси, які є більш сприятливими через можливість розвитку компенсаторних процесів, тож, оскільки нами було обрано для досліджень модель ЦД першого типу, яку відтворювали на молодій групі тварин, то описаний процес можна віднести і до наших досліджень.

Висновки. Тож можна заключити, що за умов ЦД порушується функція не лише сенсорних волокон, як було описано у попередніх дослідженнях, а й моторних волокон, але у порівнянні з сенсорним дефіцитом патологія даного типу волокон виражена дещо слабше, через ймовірну можливість розвитку ремодельовальних властивостей. Отже за умов гіперглікемії відбувається зниження провідності та проявляється тенденція до зниження збудливості. Отже гіперглікемія вносить дисбаланс у синхронізацію активності волокон вентрального корінця СМ.

Перспективи подальших досліджень. Виявлені нами зміни спонукають до більш детального вивчення процесів,

які проходять у вентральних корінцях СМ в умовах гіперглікемії, зокрема стан синаптичної передачі та моносинаптичні реакції даної структури, які буде розглянуто у наших подальших дослідженнях.

Література

1. Воробьева А. А. Диабетическая нейропатия: некоторые вопросы распространенности, патогенеза и лечения / А. А. Воробьева // Русский медицинский журнал. – 2009. – №11. – С. 748-750.
2. Зеликсон Ю. И. Диабетическая полинейропатия / Ю. И. Зеликсон // Новая аптека. – 2010. – №6. – С. 40-41.
3. Зиновьева О. Е. К оценке функционального состояния периферического нейромоторного аппарата у больных сахарным диабетом / О. Е. Зиновьева, Ф. Е. Горбачева, В. А. Парфенов // Журн. невропатол. и психиатр. – 1991. – Т. 91, №4. – С. 18-22.
4. Ильиных М. А. влияние аутоиммунного и токсического поражения печени матери на структурно-функциональное становление поджелудочной железы ее потомства / М. А. Ильиных, Г. В. Брюхин // Известия Челябинского научного центра. – 2006. – Т. 34, №4. – С. 145-147.
5. Калинин А. П. Диабетическая нейропатия / А. П. Калинин, И. Г. Рудакова, С. В. Котов // Альманах клинической медицины. – 2001. – №4. – С. 95-107.
6. 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 Корсакова. – 1997. – №2. – С. 34-38.

7. Писарев В. Б. Структурные изменения в панкреатических островках при экспериментальном сахарном диабете на фоне введения биологически активной добавки на основе гимнемы лесной / В. Б. Писарев, А. А. Спасов, А. Е. Буланов [и др.] // Морфология. – 2008. – № 1. – С. 60-64.
8. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва // Москва : Медиасфера, 2002. – 312 с.
9. Ривилис И. С. Распространенность и факторы риска развития диабетической нейропатии / И. С. Ривилис, Б. Н. Маньковский // Лікарська справа. – 2000. – № 7-8. – С. 69-71.
10. Родинський О. Г. Активність інтернейронних пулів спинного мозку за умов експериментального цукрового діабету / О. Г. Родинський, О. Г. Зінов'єва, О. В. Мозгунов [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2013. – №5. – С. 50-55.
11. Родинський О. Г. Електрофізіологічний аналіз збудливості нервово-м'язового комплексу за умов експериментального цукрового діабету / О. Г. Родинський, О. Г. Зінов'єва, О. В. Мозгунов // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2012. – №3. – С. 7-12.
12. Родинський О. Г. Характер зміни потенціалу дорсальної поверхні спинного мозку за умов експериментального гіпотиреозу / О. Г. Родинський, В. М. Белоконов, О. В. Мозгунов // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2008. – Т. 5, № 1-2. – С. 3-7.
13. Сивоус Г. Клиническая характеристика диабетической периферической полиневропатии у детей и подростков / Г. Сивоус // Врач. – 2004. – №2. – С. 43-45.
14. Строков И. А. Лечение диабетической полиневропатии / И. А. Строков, А. Н. Баринов, М. В. Новосадова [и др.] // РМЖ. – 2001. – Т. 9, № 7-8. – С. 314-317.
15. Ткачева О. Н. Эффекты фенофибрата у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, осложненным диабетической нейропатией / О. Н. Ткачева, И. М. Новикова, Н. В. Шарашкина [и др.] // Сахарный диабет. – 2010. – № 1. – С. 33-39.
16. Храмылин В. Н. Диабетическая периферическая полинейропатия / В. Н. Храмылин // Consilium provisorum. – 2003. – № 9. – С. 19-21.
17. Biessels G-J. 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, №12 – P. 757-768.
18. Bomers K. Redistribution of axoplasm in the motor root in experimental diabetes / K. Bomers, H. Braendgaard, A. Flyvbjerg [et al.] // Acta Neuropathol. – 1996. – Vol. 92, № 1. – P. 98-101.
19. Fahim M. A. Early morphological remodeling of neuromuscular junction in a murine model of diabetes / M. A. Fahim, M. Y. Hasan, W. B. Alshuaib // J. Appl Physiol. – 2000. – Vol. 89. – P. 2235-2240.
20. 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, №4. – P. 1143-1152.
21. Hendriksen P. H. Hypoxic neuropathy versus diabetic neuropathy. An electrophysiological study in rats / P. H. Hendriksen, P. L. Oey, G. H. Wieneke [et al.] // J. Neurol. Sci. – 1992. – Vol. 110, № 1-2. – P. 99-106.
22. Zangiabadi N. Atorvastatin treatment improves diabetic polyneuropathy electrophysiological changes in non-insulin dependent diabetic patients: a double blind, randomized clinical trial / N. Zangiabadi, K. Shafiee, K. H. Alavi [et al.] // Minerva Endocrinol. – 2012. – Vol. 37, № 2. – P. 195-200.

УДК 616. 379-008. 64-092. 9:612. 833

ВИКЛИКАНА АКТИВНІСТЬ ЕФЕРЕНТНИХ ВОЛОКОН СІДНИЧНОГО НЕРВА ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Родинський О. Г., Зінов'єва О. Г., Мозгунов О. В., Трушенко О. С.

Резюме. На щурах лінії Вістар дослідили активність вентральних корінців спинного мозку, а саме проаналізували поріг, хронаксію, латентний період, тривалість та амплітуду потенціалу дії (ПД) вентрального корінця (ВК). Встановлено, що за умов експериментального цукрового діабету (ЦД) спостерігається тенденція до підвищення порогу виникнення ПД ВК (на 17%), а також певне підвищення хронаксії (на 15%). Було виявлено збільшення тривалості ПД ВК (до 38%, $p < 0,001$) та зниження його амплітуди (на 8%, $p < 0,01$). При дослідженні гальмівних процесів у ВК спостерігалася тенденція до підвищення амплітуди ПД у відповідь на 2-й стимул ($p > 0,05$). Зроблено висновки, що за умов ЦД відбувається зниження провідності та проявляється тенденція до зниження збудливості. Отже гіперглікемія вносить очевидний дисбаланс у синхронізацію активності волокон вентрального корінця спинного мозку.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична невропатія, потенціал дії, вентральний корінець спинного мозку.

УДК 616. 379-008. 64-092. 9:612. 833

ВЫЗВАННАЯ АКТИВНОСТЬЮ ЭФФЕРЕНТНЫХ ВОЛОКОН СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Родинский А. Г., Зиновьева Е. Г., Мозгунов А. В., Трушенко А. С.

Резюме. На крысах линии Вистар провели исследование активности вентральных корешков спинного мозга а именно анализ порога, хронаксии, латентного периода, длительности и амплитуды потенциала действия (ПД) вентрального корешка (ВК). Установлено, что в условиях экспериментального сахарного диабета (СД) наблюдается тенденция к повышению порога возникновения ПД ВК (на 17%), а также некоторое повышение хронаксии (на 15%). Выявлено увеличение длительности ПД ВК (до 38%, $p < 0,001$) и снижение

его амплитуды (на 8%, $p < 0,01$). При исследовании тормозных процессов в ВК наблюдалась тенденция к повышению амплитуды ПД в ответ на 2-й стимул ($p > 0,05$). Сделаны выводы, что при СД происходит снижение проводимости и проявляется тенденция к снижению возбудимости. Следовательно гипергликемия вносит некоторый дисбаланс в синхронизацию активности волокон вентрального корешка спинного мозга.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая нейропатия, потенциал действия, вентральный корешок спинного мозга.

UDC 616. 379-008. 64-092. 9:612. 833

Evoked Activity of the Efferent Fibers of the Sciatic Nerve in Experimental Diabetes Mellitus

Rodinsky A. G., Zinov'eva E. G., Mozgunov A. V., Trushenko A. S.

Abstract. Diabetic neuropathy (DN) that accompanies diabetes mellitus (DM) is one of the most common and dangerous complications of the latter, and it involves the peripheral and central nervous system. The development of these complications is explained with inadequate glycemic control, in which there are fluctuations of glucose levels during the day. Previous studies have demonstrated that DN develops in the early stages of the disease, both at the level of the peripheral neuromuscular system unit and disrupts the afferent link of the reflex arcs of the spinal cord. Most researchers note the development of DN in humans but experimental researches have shown the development of neuropathy in early onset (several weeks to months). In the literature, there are especially deep illuminated the sensory link of DN, but little attention is paid to the development of motor neuropathy, so the problem is the least understood, especially when it comes to the functional state of the efferent fibers. Therefore, the aim of this study was to investigate the bioelectric activity of efferent fibers of the sciatic nerve in experimental DM one month after the beginning of the disease.

DM was modeled by a single intraperitoneal administration alloxane monohydrate at the dose of 170 mg/kg. The animal was taken into acute experiment on the 30-th day after the modeling (onset of the disease) of diabetes. After the laminectomy and opening of the dura mater of the spinal cord, the were then isolated the ventral roots (VR) of spinal cord and cut at the entrance to the spinal cord. The stimulating electrodes were put on the sciatic nerve, the registration of bioelectric activity was carried out from the central segments of VR. There were analyzed the threshold chronaxy, latent period, duration and amplitude of the action potential (AP) of VR. Also the analysis of the dynamics of refractory phases was performed by applying the paired stimuli to the sciatic nerve (interval of 2-20 ms). The reliability of the data was evaluated by calculating the Student's t-test and Mann-Whitney criterion, which were considered to be reliable at $p < 0,05$.

It was found that in experimental DM was a tendency to increase the threshold of AP of VR (17%, $p > 0,05$), as well as some increase in chronaxy (15%, $p > 0,05$). It was found an increase in the duration of AP of VR (up to 38%, $p < 0,001$) and reduce in amplitude (8%, $p < 0,01$). In the study of inhibitory processes in the VR there was seen the tendency to increase the amplitude of the AP in response to the 2nd stimulus ($p > 0,05$) in animals with experimental DM. It was concluded that under experimental DM there disturbance took place function of not in only sensory fibers, as it was described in our previous studies, but also the motor fibers, of though when compared to the sensory deficit, the pathology of this type of fiber is expressed somewhat weaker because of the likely possibility of remodeled properties. Therefore, under conditions of hyperglycemia, a decrease in conductivity and a tendency to decrease in excitability are observed. So hyperglycemia provides obvious imbalance in the synchronization of the activity of VR fibers of the spinal cord.

The revealed changes induce a more detailed study of the processes that occur in the VR of the spinal cord under hyperglycemia, such as the status of synaptic transmission and monosynaptic reaction of VR.

Key words: diabetes mellitus, diabetic neuropathy, action potential, ventral root of spinal cord.

Рецензент – проф. Міщенко І. В.

Стаття надійшла 27. 01. 2014 р.