

УДК 612.73/74:612.8-073.7:577.352.5:616.441-008.64]-092.9

© О. Г. Родинський, В. М. Бєлоконь, 2010.

ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ МЕХАНІЗМІВ ФУНКЦІОНУВАННЯ НЕРВОВО-М'ЯЗОВОГО КОМПЛЕКСУ БЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПОТИРЕОЇДНОГО СТАТУСУ

О. Г. Родинський, В. М. Бєлоконь

Дніпропетровська державна медична академія, кафедра фізіології, м. Дніпропетровськ

THE ELECTROPHYSIOLOGICAL ANALYSIS OF MECHANISMS OF FUNCTIONING OF THE NEUROMUSCULAR COMPLEX OF WHITE RATS UNDER CONDITION OF HYPOTHYROIDISM

A.G. Rodinsky, V.N. Belokon

SUMMARY

The changes of parameters of bioelectric activity of a neuromuscular complex under condition of white rats' experimental hypothyroidism were investigated. Under condition of the given condition the increase in thresholds of excitation gastrocnemius muscle has been fixed both at a straight line, and at its indirect stimulation, reduction of amplitude of action potential, increase in the latent period and general duration of action potential of this muscle. At drawing irritation on a sciatic nerve the parameter chronaxia changed insignificantly, but it increased at direct stimulation gastrocnemius muscle authentically. On the basis of the received results the conclusion is made, that shortage of thyroid hormones in an organism can result to decrease in speed of distribution of a nervous pulse and delay of course of process of excitation in the neuromuscular device of rats.

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ НЕРВНО- МЫШЕЧНОГО КОМПЛЕКСА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ УСЛОВИИ ГИПОТИРЕОИДНОГО СТАТУСА

А.Г. Родинский, В.Н. Белоконов

РЕЗЮМЕ

Исследовали изменения параметров биоэлектрической активности нервно-мышечного комплекса при условии экспериментального гипотиреоза у белых крыс. Было зафиксировано увеличение порогов возбуждения икроножной мышцы как при прямой, так и при непрямой ее стимуляции, уменьшение амплитуды потенциала действия (ПД), увеличение латентного периода и общей длительности ПД данной мышцы. При нанесении раздражения на седалищный нерв показатель хронаксии изменялся несущественно, но он достоверно увеличивался при прямой стимуляции икроножной мышцы. На основании полученных результатов сделан вывод, что нехватка в организме тиреоидных гормонов может приводить к снижению скорости распространения нервного импульса и замедлению протекания процесса возбуждения в нервно-мышечном аппарате крыс.

Ключові слова: нервово-м'язовий комплекс, біоелектричні показники, гіпотиреоз.

В останні десятиріччя поширюваність захворювань щитоподібної залози (за типом гіпер- або гіпофункції) набула масштабного характеру [4].

Це обумовлено цілою низкою факторів, зокрема, погіршенням екологічного становища внаслідок забруднень техногенного генезу, в тому числі радіоактивними речовинами, постійними психоемоційними і фізичними навантаженнями, дефіцитом йоду на певних територіях України. В низці перерахованих факторів особливої уваги потребують дослідження дисфункції щитоподібної залози за гіпотиреїдним типом. Це, насамперед, пов'язано з постійно зростаючою поширеністю даного захворювання, особливо серед дітей і підлітків та літніх людей (до 13-17%) [11].

У проведених нами раніше експериментах по вив-

ченню біоелектричної активності інтернейронного пулу, стану збудливості спинномозкових моносинаптичних рефлекторних дуг та аферентних і еферентних шляхів спинного мозку (СМ) в умовах модельного гіпотиреозу (ГТ) була встановлена наявність ряду суттєвих змін в їх діяльності [1,6]. Проте особливості біоелектричної активності нервово-м'язового комплексу за умов ГТ потребують детального дослідження.

Тому, метою нашого дослідження був електрофізіологічний аналіз механізмів біоелектричної активності нервово-м'язового комплексу за умов модельного ГТ.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження були проведені на 29 білих щурів-самців вагою 185-220 г. Тварини були розділені на 2

групи. Перша група (n=12) – контрольна, друга (n=17) – тварини з модельним ГТ. Як і в попередніх наших дослідах [1,5,6] для створення стійкого стану ГТ ми користувалися тиреостатиком – мерказолілом, який вводили щоденно внутрішньоочеревинно, протягом 30 днів з поступовим нарощуванням дози цього препарату. Тваринам контрольної групи на протязі 30-ти днів внутрішньоочеревинно вводили по 1 мл 0,9% NaCl. Ефективність відтворення ГТ верифікували біохімічними та морфологічними методами [5]. Експерименти виконані із дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин.

Після відтворення ГТ на 31-й добі тварин брали в гострий дослід. Під тіопенталовим наркозом (5 мг/100 г, інтраперитонеально) виділяли сідничний нерв

та розміщували його на біполярних подразнюючих електродах. Відведення біоелектричної активності здійснювали від литкового м'язу за допомогою двох голчастих електродів. При вивченні стану збудливості литкових м'язів у разі їх прямої стимуляції подразнюючі голкові електроди вводили безпосередньо в м'яз.

В ході дослідження аналізували такі показники збудливості нервово-м'язової системи, як: амплітуда, латентний період (ЛП), тривалість потенціалу дії (ПД) литкового м'язу, поріг та хронаксія за умов його непрямої та прямої стимуляції. Тривалість стимулів при непрямому подразненні складала 0,3 мс, при прямому – 3 мс; інтенсивність стимулів – супрамаксимальна (2П). Отримані цифрові дані обробляли за допомогою стандартних методів варіаційної статистики.

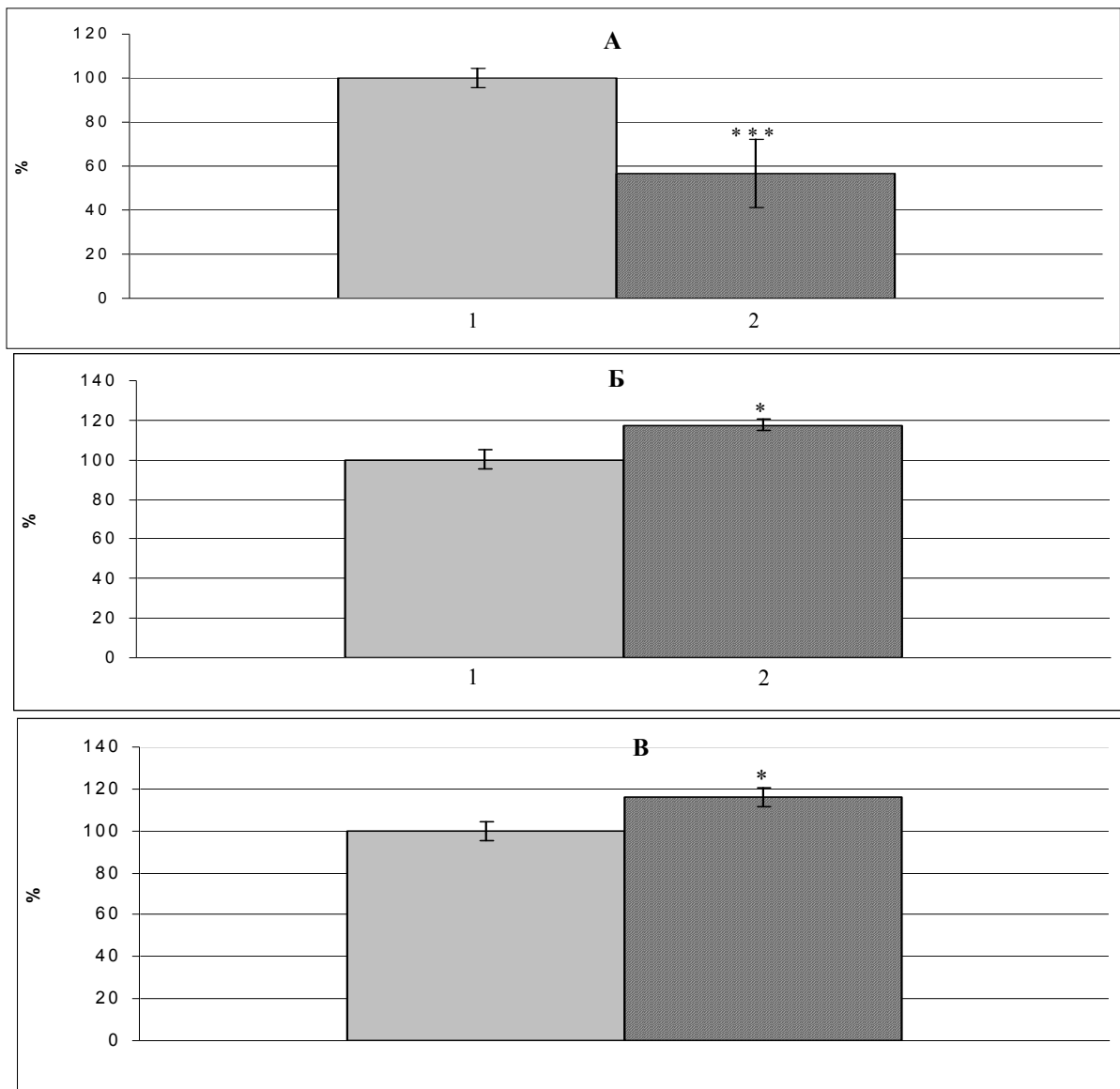


Рис. 1. Середні показники: А – амплітуди; Б – латентного періоду (ЛП); В – тривалості викликаних відповідей литкових м'язів білих щурів при їх непрямому подразненні. За 100% прийняті значення в контрольній групі тварин. 1 – контрольна група тварин, 2 – тварини з експериментальним гіпотиреозом.

На всіх рисунках довірні інтервали складають $\pm mt$, де t – критерій Стьюдента при $p < 0,05$. Одна, дві або три зірочки відповідають $p < 0,05$; $p < 0,01$ та $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В контрольній групі тварин амплітуда ПД литкового м'язу при його непрямій стимуляції складала $38,2 \pm 1,6$ мВ ($n=12$). В групі тварин з ГТ було відмічено достовірне ($p < 0,001$) зниження цього показника до $56,8 \pm 15,6\%$ ($n=17$) – рис. 1 А. В цьому та інших випадках показники в контрольній групі були прийняті за 100%.

Величина ЛП ПД за умов непрямой стимуляції литкового м'язу у інтактних тварин становила $1,43 \pm 0,07$ мс ($n=11$), а у тварин з ГТ цей показник

збільшувався до $117,5 \pm 2,9\%$ ($n=17$; $p < 0,05$) – рис. 1 Б.

При аналізі тривалості ПД у тварин із ГТ було виявлено збільшення цього показника до $6,33 \pm 0,3$ мс, або – $115,9 \pm 4,7\%$ ($n=17$; $p < 0,05$). Абсолютна величина даного параметра у тварин в контролі становила $5,46 \pm 0,3$ мс ($n=10$) – рис. 1 В.

На рис. 2 А відображені зміни величини порогу збудження литкового м'язу при його непрямій стимуляції, яка в контрольній групі складала $14,3 \pm 1,2$ мВ ($n=12$), а в стані ГТ даний показник достовірно ($p < 0,01$) підвищувався до $135,2 \pm 5,2\%$ ($n=17$).

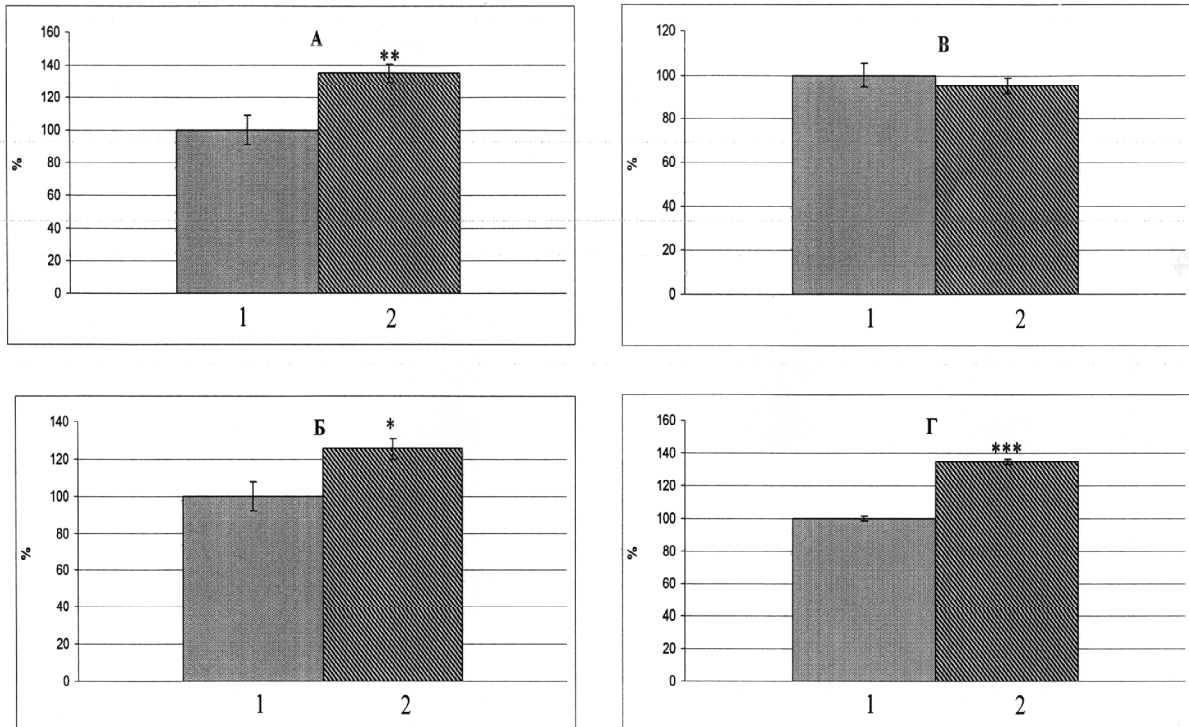


Рис. 2. Середні показники порогу виникнення (А, Б) та хронаксії (В, Г) викликаних відповідей литкових м'язів білих щурів при їх непрямому (А, В) та прямому (Б, Г) подразненні. Інші позначення ті ж, що і на рис. 1.

З метою оцінки часової динаміки збудження було проаналізовано показник хронаксії литкового м'язу за умов нанесення подразнення на сідничний нерв. У інтактних тварин величина цього параметра дорівнювала $31,09 \pm 1,8$ мкс ($n=11$). В групі тварин з ГТ цей показник змінювався недостовірно і складав $95,2 \pm 3,8\%$ ($n=15$; $p > 0,05$) – рис. 2 В.

Крім того, досліджували пряму збудливість литкового м'язу за умов нанесення подразнення безпосередньо на цей м'яз. Виявилось, що поріг збудження м'язу, який у інтактних тварин становив $2,91 \pm 0,2$ В ($n=9$), за умов ГТ достовірно ($p < 0,05$) збільшувався до $125,5 \pm 5,5\%$ ($n=17$). Ці зміни відображені на рис. 2 Б.

Дослідження зміни хронаксії литкового м'язу за умов його прямої стимуляції показало, що дана величина у інтактних тварин дорівнювала $0,43 \pm 0,007$ мс ($n=12$). В той же час у тварин з експериментальним ГТ показник хронаксії достовірно ($p < 0,001$) і суттєво

збільшувався та складав $134,8 \pm 1,4\%$ ($n=17$) – рис. 2 Г.

Аналіз отриманих результатів свідчить, перш за все, про те, що в умовах ГТ відбуваються суттєві зміни функціонального стану нервово-м'язового комплексу. Це проявляється, насамперед, у зниженні збудливості даного апарату, відображенням чого є достовірне збільшення порогів збудження литкового м'язу як при прямій, так і при непрямій його стимуляції, а також зменшенні амплітуди ПД даного м'язу.

Поряд із цим часові характеристики виникнення збудження, показником чого є хронаксія, змінювались досить різновекторно. Оскільки хронаксія, у певній мірі, характеризує, швидкість відкриття потенціалзалежних Na^+ -каналів [8,9], то збільшення цього показника в умовах ГТ найімовірніше може бути пов'язано зі зниженням швидкості відкриття цих каналів з одного боку, а з іншого боку, такі параметри, як поріг та хронаксія, можуть бути тісно пов'язані зі

станом самих м'язових волокон, що проявляється при безпосередній стимуляції литкового м'язу. Згідно з літературними даними [2], ГТ може викликати органічне ураження структурного стану м'язових білків, зокрема, Ф-актину в повільних та швидких скелетних м'язах щура, що може в певній мірі пояснити збільшення вказаних параметрів за умов прямого подразнення м'яза в стані ГТ.

Несуттєві зміни хронаксії литкового м'язу при його непрямій стимуляції мають, ймовірно, інше походження та обумовлені, скоріш за все, станом не стільки м'язових, скільки нервових волокон та синаптичного апарата в цілому. Відомо, що нестача тиреоїдних гормонів порушує енергетичне та пластичне забезпечення нервових механізмів [11], логічним результатом чого може бути зниження активності швидких натрієвих каналів та функціонального стану нервових волокон. Однак, враховуючи те, що сідничний нерв є складною структурою, в ньому можуть мати місце маскуючі ефекти зміни хронаксії моторних волокон. Слід відмітити, що подібний характер зміни хронаксії був зареєстрований нами і раніше в експериментах з відведення викликаних відповідей від вентральних корінців СМ в умовах ГТ [6].

Про зміну функціонального стану волокон периферичної частини нервової системи свідчить також збільшення ЛП та загальної тривалості ПД литкового м'язу при ГТ (рис. 1 Б, В). Дану обставину можна пояснити наявністю структурних альтерацій в прета постсинаптичних ділянках синапсів. Відомо, що загальна кількість синапсів у гіпотиреоїдних щурів зменшується [12], що логічно повинно було б призводити до зменшення ЛП. Однак, це не відбувається, ймовірно, в силу морфологічних змін структури нервових волокон, насамперед, у вигляді їх демієлінізації. Останнє, певно, порушує проведення збудження в цих волокнах, оскільки ГТ пошкоджує склад ліпідів мієліну [9]. Це може мати суттєве фізіологічне значення, так як склад ліпідів модулює різні мембранозв'язані ферменти, рецептори та переносники йонів [10]. В результаті цього збільшуються енергетичні витрати на роботу Na^+ - K^+ -насосів, які відновлюють йонні співвідношення на мембранах нервових та м'язових волокон [8]. Це, в свою чергу, за умов ГТ призводить до уповільнення швидкості передачі збудження з нервового волокна на кінцеву пластинку м'язового волокна в міоневральному синапсі, в результаті чого ЛП ПД литкового м'язу збільшується [10]. Крім того, збільшення ЛП може бути також наслідком зниження синхронізації збудження м'язових волокон, яка може викликає також зменшення амплітуди ПД литкового м'язу (рис. 1 А).

Як видно із результатів наших досліджень, зниження швидкості розповсюдження нервового імпульса та протікання процесу збудження в нервово-м'язовому синапсі знаходить своє відображення і в збільшенні загальної тривалості м'язового ПД (рис. 1

В). Подібне уповільнення швидкості проведення збудження в морфологічно зміненому нервовому волокні може бути також пов'язане зі зміною його акомодативних властивостей. Разом з цим, в збільшенні загальної тривалості ПД литкового м'язу може також мати місце і зростання асинхронності викликаних відповідей, що може відбуватися в результаті подразнення волокон різної модальності, що входять до складу сідничного нерва [3,6]. Справа в тому, що демієлінізація нервового стовбура, змінюючи його функціональні характеристики, може викликати, свого роду, "розшарування" волокна, при якому стимули максимальної величини збуджують не тільки найбільш швидкопровідні волокна, але й волокна додаткових функціональних груп сідничного нерва [3,8]. Останнє підтверджується даними про різницю на фоні ГТ швидкості розповсюдження збудження як по сенсорним, так і по моторним волокнам сегментарних рефлекторних дуг. Спочатку спостерігаються ознаки ураження аферентних, а потім і рухових волокон, насамперед, у вигляді збільшення латентності відповідей [10].

ВИСНОВКИ

1. За умов експериментального ГТ варіабельність змін у функціях нервово-м'язового комплексу проявилася у підвищенні порогу виникнення ПД литкового м'язу як при прямому, так і при непрямому його подразненні, збільшенні ЛП та загальної тривалості викликаних відповідей, зменшенні амплітуди м'язового ПД;

2. Зміни хронаксії в умовах модельного ГТ залежали від способу стимуляції литкового м'язу: показник хронаксії збільшувався при прямому подразненні і практично не змінювався – при непрямій стимуляції.

3. В умовах модельного ГТ виникали специфічні компенсаторно-адаптаційні реакції, які розвивалися в нервово-м'язовому комплексі периферичної нервової системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоконов В. М. Характеристика сегментарних рефлекторних відповідей спинного мозку щурів за умов модельного гіпотиреозу / В. М. Белоконов, О. Г. Родинський, П. О. Неруш // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2009. – № 1. – С. 7-10.
2. Влияние гипотиреоза на структурное состояние Ф-актина медленных и быстрых скелетных мышц крысы / В. П. Кириллина, А. Якубец-Пука, И. Чехомска [и др.] // II съезд биофизиков России. Тезисы. М., 1999. (раздел 5: Механизмы биологической подвижности).
3. Вызванная активность афферентных и эфферентных волокон седалищного нерва у крыс в условиях экспериментального гипертиреоза / Е. А. Макий, П. А. Неруш, А. Г. Родинский [и др.] // Нейрофизиология / Neurophysiology. – 2002. – Т. 34, № 1. – С. 51-59.

4. Григорова И. А. Особенности формирования гипотиреоидных полиневропатий // И. А. Григорова, Е. Л. ТОВАЖНЯНСКАЯ // Український неврологічний журнал. – 2008. – № 2. – С. 67-72.
5. Особливості формування адекватної моделі гіпотиреозу в експерименті на білих щурах / О. Г. Родинський, П. О. Неруш, В. М. Белоконь [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2009. – Т. 115, № 5. – С. 18-21.
6. Родинський О. Г. Характеристика викликаних відповідей дорсальних та вентральних корінців спинного мозку за умов експериментального гіпотиреозу / О. Г. Родинський, В. М. Белоконь // Клінічна та експериментальна патологія. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 94-100.
7. Alterations of diaphragm neuromuscular junctions with hypothyroidism / Y. Prakash, L. Gosselin, W. Zhan [et al.] // JAppl. Physiol. – 1996. – № 81 (3). P. 1240-1248.
8. Brodie C. Characterization of thyroid hormone effects on Na-K pump and membrane potential of cultured rat skeletal myotubes / C. Brodie, S. R. Sampson // Endocrinology. – 1988. – № 2. – P. 891-897.
9. Effect of propylthiouracil-induced hypothyroidism on membranes of adult rat brain / S. Salvati, L. Campeggi, M. Sorcini [et al.] // Lipids. – 1993. – № 28 (12). – P. 1075-1078.
10. Kazuyoshi K. Altered developmental changes of neuromuscular junction in hypo- and hyperthyroid rats / Kazuyoshi Kawa, Kunihiko Obata // J. Physiol. – 1982. – № 329. – P. 143-161.
11. Koutras D. A. Subclinical hypothyroidism / D. A. Koutras // Thyroid International. – 1999. – № 3. – P. 3-10.
12. Madeira M. D. Reorganization of mossy fiber synapses in male and female hypothyroid rats: a stereological study / M. D. Madeira, M. M. Paula-Barbosa // J. Comp. Neurol. – 1993. – № 337 (2). – P. 334-352.