

Є.А. Макій, О.Г. Родинський, В.П. Ткаченко

Вікові особливості збудливості м'яза після передавлювання сідничного нерва у щурів

На взрослых (8 нед) и старых (24 нед) белых крысах электрофизиологическими методами изучали ранние постденервационные изменения (12 и 24 ч после передавливания нервов) вызванной биоэлектрической активности икроножной мышцы крыс. Показателями данной активности были: порог, хронаксия при прямом и непрямом раздражении мышцы, амплитуда, длительность, латентный период потенциала действия (ПД); амплитуда ПД при возрастающих стимулах, двоянных раздражениях. Установлено, что изменения этих показателей в группе взрослых животных значительно более выражены и направлены на повышение возбудимости денервированной мышцы. В группе старых животных подобных изменений или не было вообще, или они были значительно меньшими, чем у взрослых животных. Предполагается, что причиной более выраженных постденервационных изменений у взрослых животных является большая, по сравнению со старыми животными, скорость аксоплазматического транспорта веществ в двигательных волокнах седалищного нерва.

ВСТУП

Відомо, що хемочутливі та електрозбудливі мембрани скелетних м'язових волокон знаходяться під постійним нейротрофічним контролем з боку нервової системи [1–4, 9, 13]. З метою оцінки механізмів цього контролю проведені дослідження, що, зокрема, стосуються ефектів денервації або блокади аксоплазматичного транспорту на функціональну активність м'яза [2, 4]. Разом з тим вікові особливості денерваційних ефектів практично не вивчалися. Виходячи з того, що швидкість аксоплазматичного транспорту значно міняється з віком [10, 11], ми спробували у віковому аспекті оцінити його можливу участь у ранніх змінах викликаної активності м'яза після передавлювання нерва. При цьому ми скористалися відомим феноменом: незважаючи на передавлювання нерва, подразнення його периферичної частини ще деякий час викликає скорочення м'яза. Вивчення змін біоелектричної активності при цьому і було метою нашої роботи.

МЕТОДИКА

Дослідження були проведені на дорослих (8 тиж, 200–240 г) і старих (24 тиж, 320–350 г) білих щурах лінії Вістар. Тваринам під ефірним наркозом передавлювали сідничний нерв справа, на рівні верхньої третини стегна. З протилежного боку робили розріз аналогічно до операції на правій лапі, але нерв не передавлювали (контроль). Через 12 або 24 год після денервації починали гострий дослід. Методика реєстрації викликаної біоелектричної активності литкового м'яза описана нами раніше [7]. Вивчали поріг виникнення, хронаксію, амплітуду, латентний період (ЛП), тривалість потенціалу дії (ПД). Крім того, досліджували динаміку амплітуди ПД на зростаючі за силою, подвійні стимули. Отримані результати обробляли за допомогою стандартних статистичних методів [5].

Досліди проводили з урахуванням Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург,

1985). Евтаназію тварини після досліду здійснювали введенням летальної дози тіопенталу натрію.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Перед викладенням результатів слід зауважити, що показники, які реєстрували на боці уявної денервації ми приймали за 100% (контроль).

Характеристику ПД м'яза при супра-максимальному подразненні нерва представлено на рис. 1. Амплітуда, тривалість і ЛП ПД через 12 год після денервації практично не відрізнялися від контрольних значень як у дорослих, так і у старих тварин. Тому на рис. 1 надані тільки показники ПД через 24 год після денервації. У дорослих тварин амплітуда ПД достовірно зменшувалася ($n=8$, $P<0,01$), а у старих тварин – не змінювалася (див. рис. 1,а). Тривалість

ПД у дорослих тварин істотно зменшувалась, у той час як у старих щурів вона достовірно не відрізнялася від контролю (див. рис. 1,б). ЛП ПД у 8-тижневих щурів істотно зменшувався, а у 24-тижневих – практично не змінювався (див. рис. 1,в).

У дорослих тварин динаміка підвищення амплітуди ПД на зростаючі стимули суттєво не відрізнялася від контролю і через 12, і через 24 год. У старих щурів через 12 год після денервації виявити зміни також не вдалося. Однак через 24 год характер підвищення амплітуди ПД достовірно відрізнявся від контрольних значень – він був повільнішим, ніж у контролі (див. рис. 1,г).

Поріг виникнення ПД у денервованому м'язі при непрямому подразненні через 12 год у дорослих щурів дещо зменшувався; у старих щурів ступінь зменшення був не таким виразним ($n=8$; $P<0,05$; рис. 2). У дорослих тварин через 12 год поріг виник-

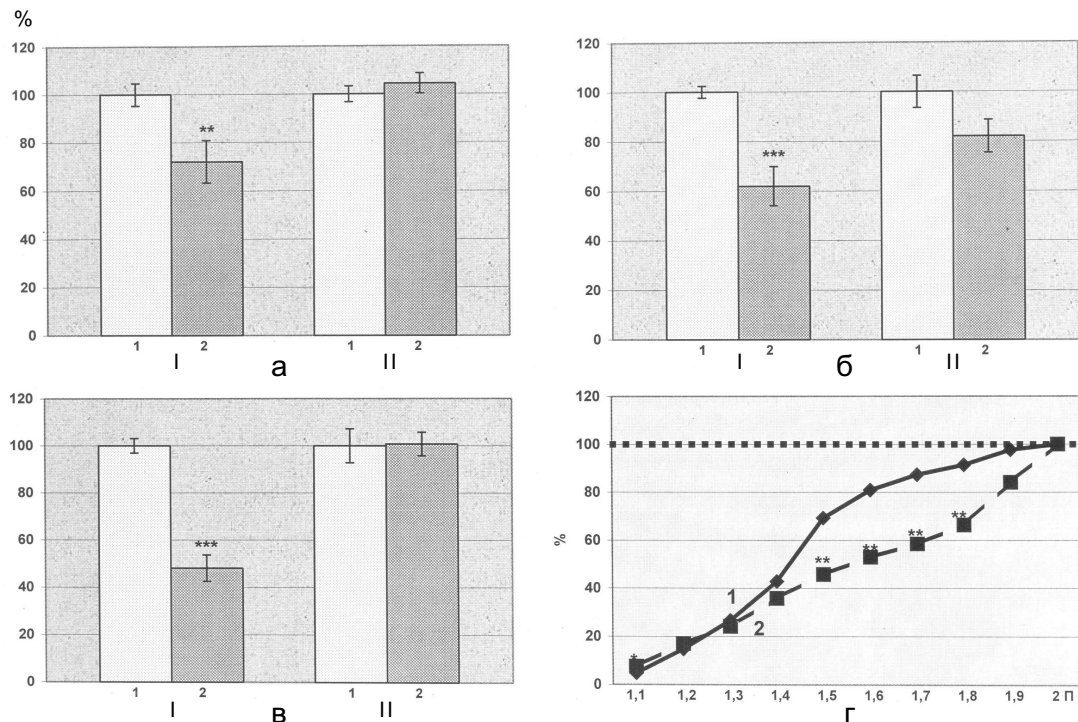


Рис. 1. Показники потенціалу дії (ПД) литкових м'язів через 24 год після денервації у дорослих (I) та старих (II) щурів у неденервованих (1) і денервованих (2) м'язах: а – амплітуда, б – тривалість, в – латентний період, г – динаміка підвищення амплітуди ПД литкового м'яза на зростаючі стимули у старих тварин (за 100% приймали відповідь литкового м'яза при його подразненні стимулом силою 2П).

* $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$ (тут і на рис. 2, 3)

нення ПД при прямому подразненні м'яза суттєво зменшувався ($n=7$; $P<0,01$), а у старих тварин – збільшувався ($n=8$; $P<0,05$; див. рис. 2). Через 24 год спостерігалось істотне підвищення порога виникнення ПД при непрямому та прямому подразненні м'яза в обох групах тварин (див. рис. 2).

Через 12 год після денервації хронаксія у дорослих тварин не змінювалася при непрямому подразненні м'яза ($n=7$; $P>0,05$). Водночас у старих щурів вона суттєво збільшувалася (рис. 3,а). Через 24 год цей показник з боку денервованого м'яза у дорослих тварин зменшувався більше ніж удвічі ($n=8$; $P<0,001$). У старих щурів хронаксія була на рівні контролю (див. рис. 3,б).

У разі прямого подразнення м'яза через 12 і 24 год хронаксія у дорослих тварин була істотно зменшеною, а у старих щурів це зменшення було менш виразним (див. рис. 3,в,г). У разі прямого подразнення м'яза через 12 і 24 год у дорослих щурів хронаксія зменшувалася майже вдвічі ($n=8$; $P<0,01$).

При дослідженні змін амплітуди ПД при подразненні сідничного нерва подвійними стимулами виявилось, що у дорослих щурів через 12 год спостерігалось більш швидке відновлення цього показника порівняно з контролем (рис. 4,а). Такий самий ефект, але ще більш виразний, спостерігається у дорослих тварин через 24 год (див. рис. 4,б). У старих тварин динаміка амплітуди ПД при подразненні подвійними стимулами не відрізнялася від такої у м'язі протилежної, неденервованої кінцівки (див. рис. 4,в,г).

Таким чином, через 12 год після денервації м'яза суттєвих змін показників ПД не виявлено. Вони спостерігалися тільки через 24 год після перерізу нервів (див. рис. 1). Ці зміни відносилися, перш за все, до дорослих щурів. У них зменшувались амплітуда, тривалість і ЛП ПД денервованого м'яза. Зменшення амплітуди ПД, на нашу думку, виникає внаслідок початкових процесів дегенерації синаптичних закінчень. Водночас зменшення тривалості (як

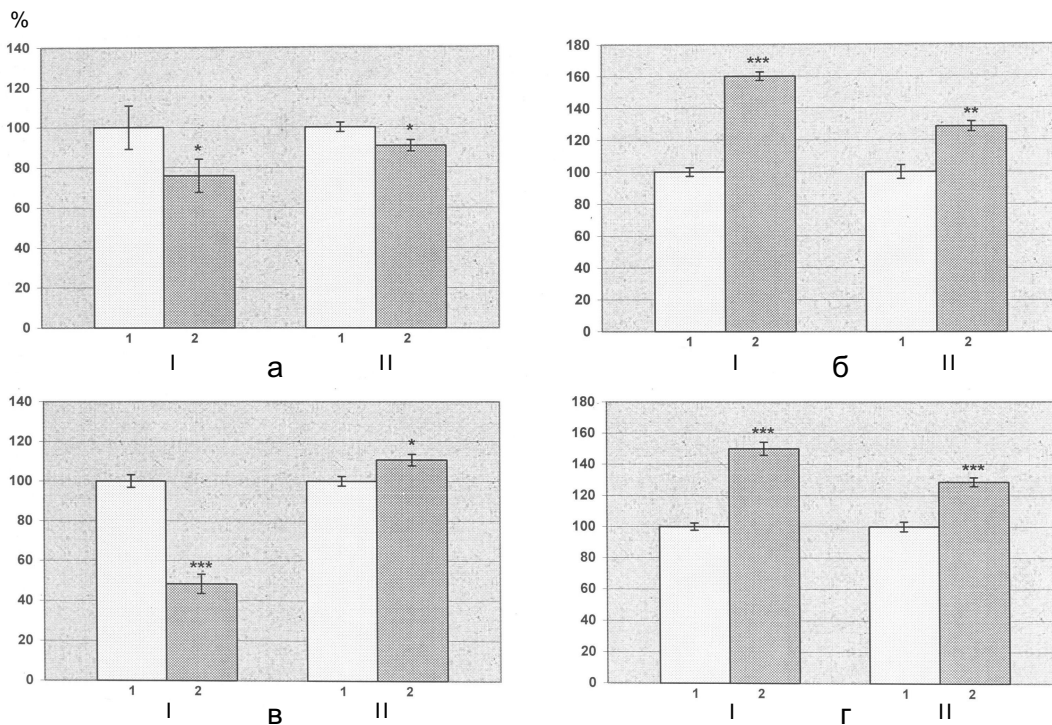


Рис. 2. Поріг виникнення потенціалу дії (ПД) литкового м'яза при непрямій (а,б) та прямій (в,г) стимуляції неденервованих (1) і денервованих (2) м'язів через 12 год після денервації (а,в) та 24 год (б,г): а – амплітуда, б – тривалість, в – латентний період, г – динаміка підвищення ПД на зростаючі стимули у старих тварин

результат більшої синхронізації збудження волокон) і ЛП може свідчити про початок постденерваційної гіперзбудливості м'яза [2–4]. Чому ж ці явища не виникають у старих щурів? Відомо, що стан регуляції електрозбудливих властивостей скелетних м'язів за умов норми тісно пов'язаний з процесами аксоплазматичного транспорту певних факторів [1, 2]. Швидкість аксоплазматичного транспорту в антероградному напрямку у старих щурів в 1,5–2 рази менша, ніж у дорослих тварин [10, 11]. Тому в останніх кількість цих факторів вичерпується швидше, а звідси і швидше виникають зміни показників електричної активності м'яза.

Слід відмітити відносно невеликі зміни виникнення ПД у денервованому м'язі у старих щурів порівняно з дорослими (див. рис. 2). Зменшення порога збудження і при прямому, і при непрямому подразненні м'яза в обох групах тварин може бути пов'язано з початком зменшення мембранного потенціалу – адже це зменшення почи-

нається вже через 3 год після перерізу нерва [4]. І дійсно, через 12 год після денервації м'язів і у дорослих, і у старих тварин поріг збудження (хоч і різною мірою) зменшений. Можна пояснити і збільшення порога виникнення ПД в обох групах тварин через 24 год після денервації – тоді ж починається дегенерація нервово-м'язових синапсів. У разі прямого подразнення через 12 год після денервації цей показник ПД у дорослих тварин знижений, можливо, через зменшення мембранного потенціалу. Водночас у дорослих тварин поріг дещо збільшений. Підвищення порогу через 24 год при прямому подразненні після денервації і у старих, у дорослих щурів поки що пояснити неможливо.

Ми оцінювали збудливість і за таким показником, як хронаксія – він дозволяє оцінити часові особливості збудження. Достатньо стабільними виявилися зміни цього показника у дорослих щурів (див. рис. 3). І якщо через 12 год хронаксія не зміню-

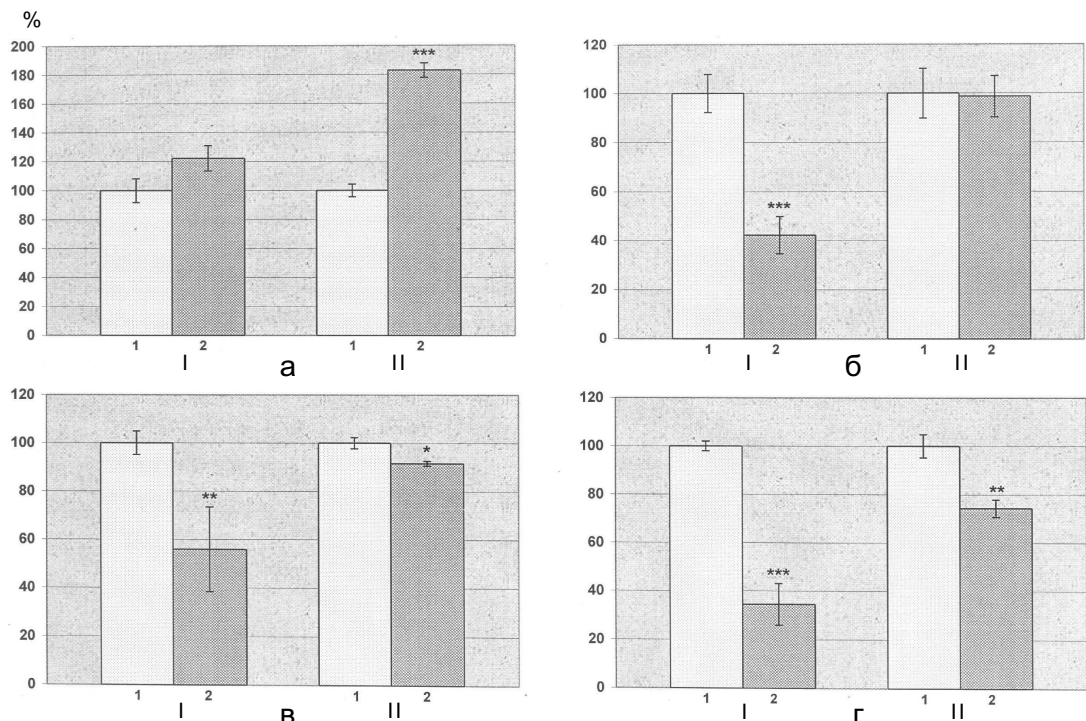


Рис. 3. Хронаксія литкового м'яза при непрямій (а,б) та прямій (в,г) стимуляції неденервованих (1) і денервованих (2) м'язів через 12 год після денервації (а,в) і 24 год (б,г): а – амплітуда, б – тривалість, в – латентний період, г – динаміка підвищення ПД на зростаючі стимули у старих тварин

валася, то через 24 год після денервації вона зменшувалася більше ніж удвічі. Водночас зменшення хронаксії у старих тварин не спостерігалося. Подібні результати спостерігали і при прямому подразненні – хронаксія була практично вдвічі меншою і через 12, і через 24 год після денервації. Менш виразні зміни при прямій стимуляції спостерігались і у старих тварин. Хронаксію можна асоціювати (звісно, в дуже великому наближенні) з часом відкриття натрій-потенціалкерованих каналів [6, 8]. Тому, на підставі аналізу результатів про характер при прямому подразненні можна зробити припущення, що у дорослих щурів зменшується час відкриття цих каналів. Це збігається з даними про нейротрофічний контроль натрієвої проникності скелетних м'язових волокон [2].

Таким чином, у нашому дослідженні показано достатньо суттєві ранні постденерваційні зміни у дорослих тварин. У старих тварин ці зміни або відсутні, або

мало виражені. Можливо, це зумовлено пізнішим виникненням порушення нейротрофічної регуляції у зв'язку з меншою швидкістю антероградного аксоплазматичного транспорту в рухових волокнах сідничного нерва [10, 11]. Що саме є фактором, який за умов норми контролює біоелектричну активність м'яза? Ми, як і інші дослідники, вважаємо, що ним є неквантова секреція ацетилхоліну в синапсі. Вона існує ще 6–20 год після перерізу нерва у щура [12]. Є дані про те, що неквантова секреція ацетилхоліну чинить нервовий контроль електричних властивостей м'язових волокон через кальційзалежну активацію синтезу молекул NO в саркоплазмі [9]. При цьому NO може ретроградно впливати на нервово-м'язову терміналь, сигналізуючи про нормальний стан нервово-м'язового з'єднання. Порушення цього зв'язку, що виникає внаслідок припинення неквантової секреції ацетилхоліну, і є сигналом, який викликає розвиток ранніх постденерва-

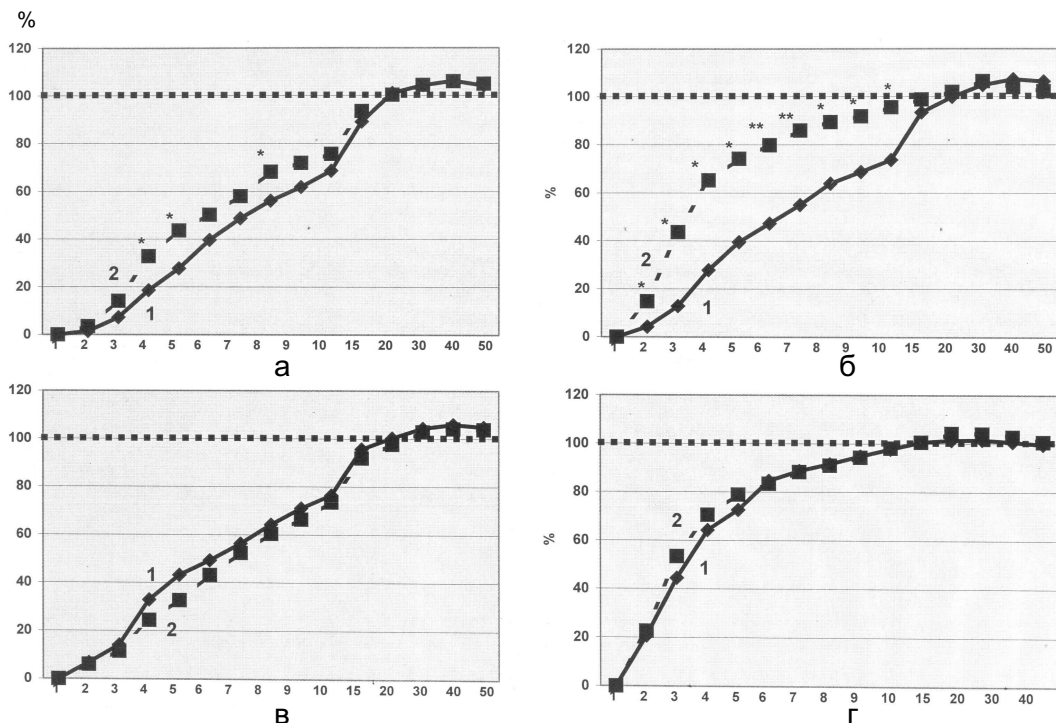


Рис. 4. Динаміка амплітуди потенціалу дії у відповідь на другий стимул при подразненні нерва подвійними стимулами силою 2П через 12 (а,в) та 24 год (б,г) у дорослих (а,б) та старих (в,г) щурів: 1 – неденерований, 2 – денерований м'яз. За 100% прийнята амплітуда ПД на поодинокое подразнення. По горизонталі – інтервал між стимулами, мс

ційних змін. З цього можна зробити висновок, що гіпотетичною речовиною (або речовинами), що передаються аксоплазматичним транспортом, є речовини, необхідні для підтримання структури та функції нервово-м'язового синапсу.

Є.А.Макий, А.Г.Родинський, В.П.Ткаченко

AGE FEATURES AN EXCITABILITY OF MUSCLE AFTER NERVES SQUEEZING IN THE RATS

In adult (8 weeks) and old (24 weeks) white rats early postdenervation changes (in 12 and 24 hours after nerves squeezing) of bioelectric activity of gastrocnemius muscles were studied using electrophysiological methods. Parameters of the activity were: a threshold, chronaxy during direct and indirect muscle irritation; amplitude, duration, the latent period of action potential (AP), an amplitude of AP during increasing stimulation and during dual irritations. It is established that the changes in these parameters in group of adult animals are considerably more pronounced and directed to the increase in excitability of the denervated muscle. In the group of old animals these changes were absent or they were considerably smaller. It is suggested that the cause of more pronounced postdenervated changes in adult animals is a higher speed of axoplasmic transport of the substances in the motor fibers of a isciatic nerve.

Dnepropetrovsk State Medical academy, Ministry of Health of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волков Е.М. Нейротрофический контроль Непроницаемости мембраны мышечного волокна // Успехи соврем.биологии. – 1990. – **109**, №3. – С. 339–351.
2. Волков Е.М. Факторы нейротрофического контроля ацетилхолиновой рецепции скелетных мышц // Успехи физиол.наук. – 1989. – **20**, №2. – С. 26–45.
3. Волков Е.М., Полетаев Г.И. Влияние денервации и

- возможные механизмы нейротрофического контроля хемочувствительной и электрогенной мембран скелетных мышечных волокон // Там же. – 1982. – **13**, №3. – С. 9–30.
4. Волков Е.М., Фросин В.Н. Неквантовый выход ацетилхолина в двигательных нервных окончаниях и денервационные изменения мембраны мышечных волокон крысы после блокады аксонного транспорта // Нейрофизиология. – 1984. – **16**, №2. – С. 231–238.
 5. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. школа, 1990. – 351 с.
 6. Макий Е.А., Неруш П.А., Родинский А.Г. Параметры потенциала дорсальной поверхности спинного мозга крыс при экспериментальном гипертиреозе // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 2001. – **33**, №4. – С. 279–285.
 7. Неруш П.О., Макий Є.А., Родинський О.Г. Вікові особливості функціонування нервово-м'язової системи щурів за умов гіпертиреозу // Фізіол.журн. – 2001. – **47**, №5. – С. 12–17.
 8. Ходоров Б.И. Электрическая возбудимость нервного волокна. – В кн.: Общая физиология нервной системы / Под ред. П.Г.Костюка, А.И.Ройтбака. – Л.: Наука, 1979. – С. 44–104.
 9. Уразаев А.Х., Магсумов С.Т., Полетаев Г.И. Роль некантовой секреции ацетилхолина в нервном контроле мембранного потенциала мышечных волокон крысы // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 1995. – **27**, №1. – С. 67–71.
 10. Фролькис В.В., Танин С.А. Аксонный транспорт стероидных гормонов по волокнам спинальных корешков у крыс // Там же. – 1997. – **29**, №2. – С. 98–104.
 11. Фролькис В.В., Танин С.А., Марцинко В.И. и др. Скорость аксоплазматического транспорта в вентральных корешках спинного мозга крыс в старости и ее зависимость от уровня энергетического обмена // Там же. – 1984. – **16**, №2. – С. 189–194.
 12. Deshpande S.S., Albuquerque E.X., Guth L. Neurotrophic regulation of prejunctional and postjunctional membrane at the mammalian motor-end plate // Exp. Neurol. – 1976. – **53**, №1. – P. 151–165.
 13. Iannello R.C., Jeffrey P.L. Neural influence on the metabolism of skeletal muscle membranes // Neurosci. Lett. – 1987, №27. – P. 87.

Дніпропетров. мед. академія МОЗ України

Матеріал надійшов до редакції 1.03.04