

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

ІВАНОВА Ольга Іллівна

**ВПЛИВ КОЛХІЦИНУ НА ПРОВЕДЕННЯ
ЗБУДЖЕННЯ У НЕРВОВО-М'ЯЗОВІЙ СИСТЕМІ**

03.00.13 — фізіологія людини і тварин

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ 1997

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00752740 (P)

АВ 37.907

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

ІВАНОВА Ольга Іллівна

ВПЛИВ КОЛХІЦИНУ НА ПРОВЕДЕННЯ
ЗБУДЖЕННЯ У НЕРВОВО-М'ЯЗОВІЙ СИСТЕМІ

03.00.13 — фізіологія людини і тварин

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ 1997



Дисертацією в рукопис

Робота виконана на кафедрі нормальної фізіології Дніпропетровської державної медичної академії

Науковий керівник: доктор медичних наук,
професор *Макій Є. А.*

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук,
професор *Рибальченко В. К.*
доктор медичних наук,
професор *Скібо Г. Г.*

Провідна організація: Дніпропетровський державний університет.

Захист відбудеться «*23*» *червня* 1997 р. о 14 год.
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.01.01.10 при Київському університеті імені Тараса Шевченка за адресою 252022, Київ-22, проспект Глушкова 2, НДІ фізіології, кімн. 503.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Київського університету імені Тараса Шевченка за адресою :252033, Київ-33, вул. Володимирська, 58.

Автореферат розісланий «.....» 1997 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради

кандидат біологічних наук

Г. П. ГУШИНЕЦЬ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Однією з ознак життєдіяльності нейрона є рух аксоплазми у аксонах — аксонний транспорт (АТ) (Волков Е. М., 1989; Гутман Е., 1979; Jirikovski G. H. a oth., 1992, Bisby M. A., 1985, Ochs S., 1976, 1984, 1989; Weiss D. G., 1982; Grafstein B. S., 1986). Аксонний транспорт прирівнюють за значенням до інформаційних процесів у нервовій системі, вважаючи його відповідальним за «трофічний резонанс» в останній, який з'єднує усі нервові структури у цілісне морфо-функціональне утворення (Eccls J. C., 1973).

Проблема зв'язку між фізіологічними процесами збудження у нервовій системі та процесами фізіології і патології аксонного транспорту вельми актуальна, має прикладне і загальне біологічне значення, в тому числі і для теоретичної нейрофізіології (Волков Е. М., 1989, 1990; Крыжановский Г. Н., 1990; Alvarez I., 1979; Csillik B., 1987; Dahlström A., 1983; Martenson C. H. a oth., 1995; Vuorinen V. S., Roytta M., 1990).

По-перше, мова йде про взаємозв'язок механізмів, які забезпечують АТ в нейронних структурах, з процесами збудження у цих структурах. Інакше кажучи, чи залежить збудження від стану АТ, і якщо так, то яким чином? По-друге, це залежність процесів збудження від стану АТ у нервових структурах різного рівня організації нервової клітини, та аксонах. У зв'язку з цим потрібно відзначити: якщо до стану збудження у нервових волокнах після блокади АТ в літературі зустрічаються поодинокі дослідження (Акоев Г. Н., Енин Л. Д., Чалисова Н. И., 1985; Fitzgerald M., a oth, 1984), то наші знання про стан збудження у спинному мозку після блокади АТ є суцільною «білою плямою».

У біологічних дослідженнях серед речовин, що викликають порушення АТ, найбільш часто використовують колхіцин (КЦ). Цей алкалоїд, викликає дисоціацію мікротрубочок та нейрофіламентів, що порушує АТ у нервових волокнах та нейронах (Волков Е. М., 1984; Alonso G., 1983; Chang A. C., Dellmann H. D., 1984; Ramirez B. U., 1984; Shiraishi S., 1985; Tilson H. A., Harry G. J., 1987).



Разом з тим практично відсутні дані про можливі зміни фізіологічних властивостей змішаного черву, його аферентних та еферентних волокон, рефлекторної передачі у спинному мозку після порушення АТ за допомогою колхіцину.

Дані про характер рефлекторних процесів після дії колхіцину на спинний мозок носять описовий характер (Zanoli P., Baraldi M., 1988). Певні суперечливості існують і у питанні про вплив колхіцину на передачу збудження з нерва на м'яз, участі АТ у процесах регенерації (Komatsu K. a oth., 1984; Shizaishi S., 1985).

Поряд з теоретичною актуальністю існує і практичний аспект участі АТ у процесах діяльності нервової системи. Так, невідомі механізми невропатій при порушенні АТ, особливо діабетичного походження (Kzistensson K., Gustafsson N., 1984), участь АТ у вертеброгенних міодистрофічних синдромах (Попелянський Я. Ю. і співавт., 1985); порушення АТ пов'язують і з хворобою Альцгеймера (Dustin P., Flament-Duand T., 1982) тощо. Безпосереднє практичне значення має вивчення механізмів нервових порушень після застосування антитубулінових речовин, які широко використовуються у онкологічних клініках. Відомо, що ці препарати, наприклад, колхіцин та вінка-алкалоїди істотно порушують АТ у нейронах.

Не дивлячись на істотну теоретичну та практичну актуальність зазначених питань, дослідження, присвячені фізіологічним механізмам взаємозв'язку АТ з збудженням в нервовій системі, нечисленні і певною мірою суперечливі (Hinklay R. E., Green L. S., 1971; Fitzgerald M. a oth., 1984). Особливо це стосується віддалених наслідків гальмування (блокади) АТ.

Мета та завдання дослідження. Метою роботи є вивчення характеру проведення збудження в нервовій системі після впливу на неї колхіцину. Відповідно до мети дослідження вирішувалися такі завдання:

1. З'ясувати характер та динаміку розвитку змін проведення збудження по змішаному нерву, його аферентних та еферентних волокнах після дії на нього колхіцину.

2. Дослідити характер порушень проведення збудження у сенсорних та моторних нейронах спинного мозку у різні терміни після блокади АТ за допомогою колхіцину в спинному мозку.

3. З'ясувати характер змін передачі збудження з нерва, на який подіяв колхіцин, до скелетного м'яза; вплив блокади АТ на процес відновлення фізіологічної активності скелетного м'яза в перебігу регенерації нерва.

Наукова новизна роботи. Вперше досліджено почасову динаміку змін викликані біоелектричної активності змішаного нерва після впливу на нього КЦ, характер змін фізіологічних параметрів збудження по аферентних та еферентних нервах у вказаних умовах, характер змін діяльності спинномозкової рефлекторної дуги після дії КЦ на нерв. Встановлено характер змін викликані біоелектричної активності спинного мозку, її почасова динаміка після субарахноїдального введення колхіцину. Вперше, з урахуванням блокуючої дії колхіцину на передачу збудження у нерві, описано зміни характеру передачі збудження на скелетний м'яз після блокади АТ.

Виходячи з отриманих даних, вперше зроблена спроба з'ясувати механізми АТ, на яких базується проведення збудження у нервовій системі. Запропонована «дисоціаційна» модель нервового впливу на м'яз: за умов блокади АТ впродовж певного часу (48 годин) проведення збудження у нерві зберігається.

Теоретичне і практичне значення роботи. Встановлені закономірності дії блокатора АТ, колхіцину, на проведення збудження по нервових волокнах, в рефлекторних дугах спинного мозку, через нервово-м'язові синапси. Важливе теоретичне значення має висновок про зв'язок достатньо тривалого гальмування АТ з процесами порушення проведення

збудження у нервовій системі. Це дає змогу обґрунтувати роль АТ у підтримці процесів забезпечення проведення нервової імпульсації, нейротрофічного контролю стану скелетних м'язів.

Практичне значення роботи полягає у з'ясуванні особливостей дії антитубулінових речовин, наприклад колхіцину, на різні відділи нервової системи та визначення шляхів можливого пом'якшення шкідливої дії у разі лікування препаратами даної групи.

Основні наукові положення, які виносяться на захист.

1. Блокада аксонного транспорту у сидичному нерві та спинному мозку колхіцином тривало порушує проведення збудження у цих структурах, прямо залежно від дози та часу дії колхіцину. Існує проміжок часу, коли, незважаючи на блокаду АТ, проведення збудження зберігається, що дає можливість розподілу імпульсних та неімпульсних впливів нервової системи.

2. Гальмування імпульсної активності, викликане тривалим пригніченням аксонного транспорту, не відіграє істотної ролі у порушеннях нервово-трофічної регуляції стану скелетного м'яза після блокади АТ. Ці порушення — стійка деполаризація волокон м'яза, зменшення амплітуди потенціалів кінцевої платівки, амплітуди та частоти мініатюрних потенціалів кінцевої платівки пов'язані перш за все з порушенням аксонного транспорту у нерві.

3. Нормальний стан аксонного транспорту у нейронах та їх аксонах є необхідним для фізіологічних реакцій збудження у нервовій системі. Аксонний транспорт відіграє важливу роль і у процесах регенерації в нервовій системі, організуючи та прискорюючи відновлення скоротливості м'яза.

Апробація роботи. Матеріали дисертації доповідались і обговорені на: 2 Республіканській конференції молодих вчених-медиків УРСР (Львів, 1979); II з'їзді Українського фізіологічного товариства, (Дніпропетровськ, 1982); 14 конференції молодих вчених, (Дніпропетровськ, 1983);

Всесоюзному симпозиумі «Физиология медиаторов периферического синапса» (Казань, 1984); 15 з'їзді Всесоюзного фізіологічного товариства ім. І. П. Павлова (Кишинів 1987); Республіканській конференції науково-медичних товариств патофізіологів «Фундаментальные механизмы развития патологических процессов» (Дніпропетровськ, 1992); науковій сесії, присяченій 100-річчю кафедри фізіології Львівського медичного університету (Львів, 1995); кафедрі нормальної фізіології Донецького медичного університету (Донецьк, 1996).

Обсяг і структура дисертації. Дисертація складається із: вступу, огляду літератури, глави матеріалів і методів дослідження, трьох глав власних досліджень, обговорення результатів, висновків та списку цитованої літератури, який складається з 56 вітчизняних та 209 іноземних публікацій. Основний текст викладено на 128 сторінках машинопису. Роботу ілюстровано 25 малюнками та 9 таблицями.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових праць.

Особистий внесок дисертанта полягає у формулюванні мети і основних завдань роботи, проведенні експериментальних досліджень, обробці, аналізі і узагальненні одержаних результатів.

ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень. В експериментальних дослідженнях використовували білих щурів лінії «Вістар» масою 220—250 г; один з фрагментів дослідження проведений на жабах (*Rana esculenta*). Для блокади АТ в нервовій системі використовували алкалоїд колхіцин (КЦ), який викликає деструкцію мікротрубочок у нерві і порушує аксонний транспорт (АТ).

З багатьох методичних способів впливу КЦ на нерв ми застосували аплікацію ватяного тампона просоченого розчином

КЦ на нерв впродовж певного часу. Експериментально встановлена тривалість та концентрація КЦ становили відповідно 10 хв та 12,5 ммоль/л. За цих умов виникала чітко визначена (за допомогою електронномікроскопічних та біохімічних методів) деструкція мікротрубочок (Бразалук А. З., Ткаченко В. П., та співавт., 1996). Допоміжним критерієм, який свідчив про порушення АТ, було вимірювання порогу збудження м'яза у випадку його прямого подразнення — поріг при цьому істотно зменшувався.

Технічно операція аплікації КЦ на нерв здійснювалася таким чином: на задній лапі тварини виділяли сідничний нерв. Ватяний тампон просочували розчином КЦ (колхідин фірми «Merck», Німеччина, розчин готувався *ex tempore* на фізіологічному розчині), обгортали ним нерв на рівні середньої третини стегна, а через 10 хвилин — знімали його. На протилежному боці робили аналогічну маніпуляцію, але замість розчину КЦ використовували фізіологічний розчин (ФР) (контроль).

Для впливу КЦ на спинний мозок його вводили субарахноїдально, шляхом спинномозкової пункції 0,05 мл розчину; концентрація КЦ в цьому випадку коливалася в межах 7,5—0,0625 ммоль/л. Контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин. Через певний час після впливу КЦ тварин брали до експериментів для електрофізіологічних досліджень.

Частина експериментів проведена на ізольованих відрізках нервів у вологій камері. У цих дослідах реєстрували параметри, що давали уявлення про хід збудження у сідничному нерві: поріг виникнення, латентний період та амплітуду потенціалу дії.

У випадку дослідження *in situ* тваринам проводили ламінектомію у 1—6 поперекових сегментах спинного мозку, розрізали тверду оболонку, виділяли вентральні та дорсальні корінці. Тварин розміщали у стереотаксичному пристрої (СЭЖ-5), перерізували необхідні корінці, укладали їх на біполярні подразнюючі та відповідні електроди. Потім мозок заливали

теплою вазелиновою олією і через 3—4 години починали реєстрацію викликаної біоелектричної активності.

Впродовж гострого досліду тварина знаходилась на штучній вентиляції легенів, скелетні м'язи були релаксовані (d-тубокурарін). Контролювали ректальну, температуру та температуру вазелинової олії (відповідно 37,5 та 34—35 градусів за Цельсієм).

У гострому досліді вивчали три основних показники викликаної біоелектричної активності: 1) потенціали дії нервового стовбура або окремих нервових волоконць; 2) фокальні відповіді інтернейронів та мотонейронів або окремих інтернейронів; 3) відповіді цілісних скелетних м'язів або окремих м'язових волоконць.

Потенціали нервів *in situ* вивчали не тільки у цілому, але і роздільно для аферентних та еферентних частин нервів. Для цього подразнювали сідничний нерв вище або нижче місця аплікації КЦ, а відведення здійснювали з периферичних частин дорсальних (аферентні волокна) та вентральних (еферентні волокна) корінців.

В окремих експериментах реєстрували фонову активність аферентних волоконць дорсального корінця. Відведення здійснювали зовнішньоклітинно скляними мікроелектродами, що заповнювалися розчином NaCl (2 ммоль/л). Реєстрували катодним повторювачем за загальновідомою методикою (Первис Р., 1983; Мамкин А. Г., Киселева И. С., 1989).

Показниками біоелектричної активності спинного мозку були потенціал дорсальної поверхні спинного мозку (ПДПСМ), що відображає реакції інтернейронів, а також електричні розряди вентральних корінців, що дозволяють характеризувати діяльність мотонейронів, зокрема тих, що активуються моносинаптично. ПДПСМ відводили кульковим електродом діаметром 1 мм, а розряди вентральних корінців відводили від їх центральних частин. У окремих випадках застосовували зовнішньоклітинну реєстрацію інтернейронів дорсального рогу за методами, що наведені вище.

Викликану біоелектричну активність м'язів реєстрували переважно при непрямому подразненні. Відповіді м'язів відводили за допомогою голкових електродів, ізольованих на усьому протязі, за винятком кінцевої частини. Скорочувальну активність м'яза реєстрували за допомогою тензометричного перетворювача конструкції проф. І. Я. Сердюченко (Сердюченко І. Я., Щербинина М. Б., 1994).

Активність окремих волоконець скелетного м'яза досліджували *in vitro* на препараті сидничий нерв — кравцевий м'яз жаби, реєстрацію мембранних потенціалів та потенціалів кінцевої платівки і її мініатюрних потенціалів за допомогою скляних мікроелектродів, заповнених розчином сірчаноокислого калію в концентрації 3 ммоль/л. Діаметр кінцевої частини мікроелектрода становив близько 1 мкм, опір 10—30 МОм.

Нерви, корінці та м'язи подразнювали електростимулятором ЭСЛ-2 або ЭСУ-2 прямокутними імпульсами тривалістю 0,3 мс та інтенсивністю, що визначалася вимогами окремих експериментів (головним чином, не більше 2—3 порогів). Біоелектричну активність відводили за допомогою універсального підсилювача УБМ, візуалізацію — за допомогою двопробеневих осцилографів С-1-64А або С-1-83 з використанням ФОР-2. Після закінчення експерименту тварину піддавали етаназії за умов глибокого тіопенталового наркозу.

Цифровий матеріал оброблений традиційними методами варіаційної статистики з урахуванням критерію Стюдента. Вірогідність різниць визначалася за допомогою параметричних та непараметричних критеріїв.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЙХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що залежність між концентрацією КЦ та параметрами проведення збудження по нерву має прямо залежний характер. Так, дослідження проведення збудження у вологій камері показано, що КЦ у великих концентраціях (1%), накладений на нерв на 1 хвилину, виражено зменшує амплітуду потенціалу дії (ПД) нерва через тиждень після аплікації — з $10,30 \pm 1,70$ до $3,77 \pm 0,48$ (мВ), $p < 0,01$. Поріг виникнення ПД

помітно зростає — з $3,90 \pm 0,72$ мкА з боку дії ФР до $10,42 \pm 1,96$ мкА з боку дії КЦ ($p < 0,01$).

Навпаки, дія малих концентрацій КЦ не викликає істотної зміни цих параметрів. Після аплікації на нерв КЦ меншої концентрації (0,1%) амплітуда ПД вірогідно не зменшується — $7,27 \pm 0,59$ та $6,62 \pm 0,48$ (мВ), $p > 0,05$. Не змінюється і поріг виникнення ПД — з боку дії фізіологічного розчину (ФР) цей показник дорівнює $5,40 \pm 1,90$ мкА, а з боку дії КЦ — $8,70 \pm 0,87$ мкА, $p > 0,05$. Проміжні концентрації КЦ (0,5%; 0,25%) також відтворюють картину поступового зникнення блокуючої дії КЦ з зменшенням його концентрації.

Ця ж тенденція виявлена і при більш тривалій дії КЦ протягом 10 хвилин. Однак слід зазначити, що у випадку малих концентрацій КЦ тривалість його дії, ймовірно, також підсилює пошкоджуючу дію алкалоїда. Так, якщо КЦ 0,1% концентрації не здійснював істотно не впливав на нерв при дії впродовж 1 хвилини, то більш тривала дія (10 хвилин) достовірно зменшує амплітуду ПД ($9,25 \pm 0,84$ та $5,46 \pm 0,07$ мВ, $p < 0,05$). Фактичний матеріал цього розділу дав можливість зорієнтуватись у дозах КЦ та часі його дії, оптимальному для порушення фізіологічної цілісності нерва.

У іншій серії експериментів ми зробили спробу виявити розвиток процесу порушення проведення збудження у часі. Ми провели дві серії експериментів, з експозицією КЦ у 10 та 30 хвилин. Найбільш сталі результати отриманні при дії КЦ у концентрації $12,5$ ммоль/л (0,5%) впродовж 10 хвилин. Виявилось, що після аплікації КЦ існує певний проміжок часу (не менше 48 год), коли проведення збудження практично не порушується, незважаючи на дестrukцію мікротрубочок. Так через 48 год амплітуда ПД сідничного нерва складала з боку дії КЦ $9,40 \pm 0,72$, а з протилежного боку — $10,03 \pm 1,03$ мВ, $p > 0,05$. Поріг виникнення ПД склав відповідно $5,35 \pm 0,05$ та $5,00 \pm 0,37$ (мкА), його латентний період — $0,42 \pm 0,04$ та $0,41 \pm 0,03$ (мс), $p > 0,05$ в обох випадках.

Але через 72 години ситуація значно змінювалась. З боку накладення КЦ вірогідно зменшувалася амплітуда ПД сідничного нерва ($5,64 \pm 0,77$ та $10,84 \pm 1,13$ мВ, $p < 0,01$), підвищувався поріг його виникнення ($8,70 \pm 0,88$ та $5,25 \pm 0,65$ мкА, $p < 0,05$) збільшувався латентний період потенціалу дії ($0,38 \pm 0,04$ та $0,29 \pm 0,02$ мс, $p < 0,05$). Таким чином, виникає вельми цікаве явище: протягом деякого часу м'яз втрачає впливи, пов'язані з АТ але нервові впливи імпульсного характеру зберігаються. Це той самий «дисоціаційний дослід», за допомогою якого, за думкою Є. Гутмана (1979), можна відокремити імпульсні та неімпульсні впливи нервової системи. Хоч розв'язання цієї проблеми не було метою нашого дослідження, ми можемо рекомендувати фактичні матеріали цього фрагменту для дослідків трофічної дії нерва на м'яз.

КЦ однаковою мірою впливає на проведення збудження по аферентних та еферентних волокнах нервового стовбура. Так, через 5 діб після аплікації КЦ на сідничний нерв амплітуда ПД периферичних частин вентрального корінця з боку дії КЦ та ФР становила відповідно $9,48 \pm 0,64$ та $14,60 \pm 2,67$ мВ, ($p < 0,05$). У випадку реєстрації відповідей з периферичних частин дорсальних корінців цей показник становив $2,14 \pm 0,24$ та $3,48 \pm 0,30$ мВ, ($p < 0,05$). Це свідчить про однакову дію КЦ на проведення збудження як по аферентних, так і по еферентних волокнах сідничного нерва.

Наступна серія експериментів присвячена дії КЦ на центральні механізми рефлекторної діяльності, зокрема функціонування спинного мозку. Треба підкреслити, що КЦ через 3 доби виражено підсилює моносинаптичні реакції, викликані подразненням дорсального корінця. В основі цього феномена, можливо, лежить досить тривале зменшення аферентного припливу до мотонейронів спинного мозку, аналогічно до механізму постденерваційної гіперрефлексії (Є. А. Макий, 1993). Через 1 або 2 доби цей феномен зникає, незважаючи на блокаду АТ в нерві.

Але зовсім інша картина виникає при безпосередній дії КЦ на спинномозкові структури — при його субарахноїдальному

введенні. Цікавою є перш за все картина візуальних змін: тварини після введення КЦ безперервно верещать, чухаються передніми кінцівками; задня ж частина тіла лишається нерухомою. Через 24 г залишаються тільки ознаки паралічу задніх кінцівок; симптоми подразнення нервової системи зникають.

Візуальні ознаки порушення функції спинного мозку добре корелюють з даними електрофізіологічних досліджень. Так, у випадку застосування досить великих концентрацій КЦ (0,3%) виникає виражене порушення викликаної активності спинного мозку. Це, насамперед, стосується моносинаптичних розрядів вентрального корінця (МР ВК), які відображують функціонування мотонейронів у складі моносинаптичної рефлекторної дуги. Так, середня амплітуда МР ВК через добу після субарахноїдального введення КЦ становила $0,57 \pm 0,14$ мВ, що значно менше порівняно до контрольної групи (введення ФР) тварин — $2,40 \pm 0,27$ мВ, ($p < 0,01$). Особливо помітно цей показник пригнічується через 3 доби після дії КЦ — $0,14 \pm 0,03$ мВ, ($p < 0,01$). Деяке відновлення МР ВК відбувається на 7 добу хоч і не досягає показника контрольних тварин ($1,21 \pm 0,25$ мВ, $p < 0,01$). Приблизно пропорційно до зменшення МР ВК зростають поріг виникнення МР ВК та його латентний період.

На наш подив, КЦ викликає набагато менші зміни у пулі інтернейронів, функціональний стан якого вивчено за показниками ПДП СМ. Так, в аналогічній ситуації (0,3% КЦ) середня амплітуда негативного компонента через добу практично не відрізняється від такої у контрольній групі тварин ($2,52 \pm 0,40$ мВ, та $2,67 \pm 0,17$ мВ, $p > 0,05$), зменшується, але зовсім не у такій мірі, як МР ВК на 3 добу ($1,85 \pm 0,37$, $p < 0,05$) і повністю відновлюється через 7 діб ($2,74 \pm 0,43$ мВ, $p > 0,05$). Інші показники, що відображують діяльність інтернейронів та первинних аферентів (поріг виникнення ПДП СМ, амплітуда аферентного піка ПДП СМ) також порушуються значно менше, ніж МР ВК.

Слід зазначити, що винайдена тенденція існує і у випадку застосування КЦ в малих (наприклад, 0,01%) концентраціях. У

цьому випадку амплітуда МР ВК через 7 діб вірогідно менша, ніж у контрольній групі тварин ($2,40 \pm 0,27$ мВ, та $1,52 \pm 0,28$ мВ, $p < 0,05$). Усі ж показники ПДП СМ не відрізняються від показників у тварин з контрольної групи.

Встановлена нами різниця у дії КЦ на інтернейрони та мотонейрони СМ, з нашої точки зору, викликана через велику кількість мікротубулярних структур у мотонейронах, на які відповідно і більш ефективно діє КЦ.

У п'ятій главі дослідження описані ефекти блокади АТ у нерві на стан проведення збудження до скелетного м'язу. Дослідження викликані подразненням нерва активності цілісного м'яза щурів після блокади АТ за допомогою КЦ показали, що через 2 доби після аплікації КЦ на нерв, спостерігається вірогідне зменшення амплітуди ПД м'яза порівняно з контролю ($28,10 \pm 4,26$ мВ та $34,4 \pm 4,87$ мВ, $p < 0,05$).

Незважаючи на те, що у ці терміни проведення збудження не порушується, зміни у проведенні його через нервово-м'язове з'єднання існують. Це свідчить про відносно мале значення нервової імпульсації у регуляції передачі збудження з нерва на м'яз. Ще більш показовим є дослідження прямої збудливості м'яза після блокади АТ у нерві. Так, через 24 години поріг при прямому збудженні з боку накладення КЦ становив $0,49 \pm 0,07$ мА, а з боку накладення ФР (контроль) — $1,12 \pm 0,09$ мА, ($p < 0,001$). Аналогічна ситуація існує і через 48 годин після аплікації КЦ ($0,48 \pm 0,07$ та $1,41 \pm 0,11$ мА, $p < 0,001$).

Проаналювати ці зміни ми вирішили за допомогою внутрішньоклітинного вивчення викликані активності поодиноких м'язових волоконць (досліди цієї серії виконані у Інституті фізіології АН СРСР, Ленінград). Експерименти виконані *in vitro* на ізольованому препараті сидничий нерв — кравцевий м'яз жаби (у жаби порушення АН протягом тривалого часу не викликає змін збудливості нерва, на відміну від ссавців). Виявилось, що через 8 діб після дії КЦ істотно зменшується мембранний потенціал м'язових волоконць з боку дії алкалоїда ($70,3 \pm 1,17$ мВ, у інтактних тварин — $83,4 \pm 0,75$ мВ, $p < 0,01$).

Зменшується середня амплітуда потенціалу кінцевої платівки (у випадку аплікації КЦ — $6,34 \pm 0,17$ мВ) порівняно з показниками у інтактних тварин — $8,30 \pm 0,19$ мВ ($p < 0,01$). Чітко простежується зменшення частоти мініатюрних потенціалів кінцевої платівки (МПКП) після дії на нерв КЦ, зникають МПКП з відносно високою амплітудою. Отримані результати ми розглядаємо як порушення нейротрофічної регуляції м'яза за умов збереженого проведення збудження по нерву. Можливо, що ці порушення викликані перш за все блокадою АТ, яка викликає дисрегуляцію мембранних процесів у м'язі та відновлення запасів медіатора у нервово-м'язовому з'єднанні.

Участь АТ у процесах відновлення скоротливої функції м'яза продемонстрована нами на щурах. На один з сідничних нервів накладали КЦ та ФР, а потім, через 5 діб, передавлювали нерв з обох боків нижче місця аплікації речовин. Через 11—32 доби з моменту передавлення досліджували силу ізометричного скорочення м'язів. Виявилось, що у терміни 11—15 діб після передавлення нерва сила скорочень однаково мала — і за умов нормальної регенерації, і за умов регенерації, що супроводжується блокадою АТ. Але, у терміни 17—32 доби з моменту передавлення нерва картина інша. З 17 до 22 діб наростає сила м'язових скорочень значно краще в контролі ніж в досліді.

Нарешті, з 22 по 32 добу відновлення сили м'язів та амплітуди м'язових скорочень відбувається практично паралельно і повністю завершується приблизно на 28 добу з моменту передавлення нерва. Таким чином, у випадках блокади АТ процес фізіологічної регенерації нерва затримується на 3—5 діб. З цього можна зробити висновок: стимуляція АТ буде прискорювати процес регенерації нерва.

ВИСНОВКИ

1. Колхідин довготривало порушує проведення збудження по нерву, що прямо пропорційно концентрації та часу дії.
2. Від початку дії колхідину на нерв до порушення збудження у нерві існує інтервал часу тривалістю біля двох діб, коли проведення збудження зберігається. Цей феномен можна

пропонувати для чіткого розподілу імпульсних та неімпульсних впливів з нерва на м'яз у ссавців.

3. Дія колхіцину на нерв викликає розвиток спінальної гіперрефлексії через три доби після аплікації колхіцину на нерв; цей ефект спричинений блокадою проведення збудження по нерву.

4. Колхіцин, застосований навіть в відносно малих дозах субарахноїдально, викликає стійке пригнічення рефлекторної діяльності спинного мозку.

5. До пошкоджуючої дії колхіцину, що введений субарахноїдально, більш схильні мотонейрони, і менше — інтернейрони та інтрамедулярні аферентні волокна.

6. Імпульсна активність в наслідок блокади аксонного транспорту за допомогою колхіцину не відіграє суттєвої ролі у нейро-трофічній регуляції волокон скелетного м'яза. Порушення цієї регуляції — стійка деполаризація скелетних м'язових волокон та зменшення амплітуди потенціалів кінцевої платівки, амплітуди та частоти її мініатюрних потенціалів — пов'язані з порушенням аксонного транспорту у нерві.

7. Аксонний транспорт відіграє важливу роль в регенерації нерва та нервово-м'язових з'єднань, прискорюючи процес регенерації та відновлюючи скоротливу функцію скелетного м'яза.

СПИСОК РОБІТ, ЩО ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Макий Е. А., Иванова О. И. Динамика действия колхицина на проведение возбуждение по смешанному нерву // Физиол. журнал СССР.—1983—Т. 69, № 5.—С. 712—715.

2. Макий Е. А., Иванова О. И. Изменение вызванной активности спинного мозга после субарахноидального введения различных концентраций колхицина // Физиол. журнал СССР.—1987.—Т. 73, № 8—С. 1057—1063.

3. Иванова О. И. Изучение электрофизиологических характеристик отдельных мышечных волокон скелетной мускулатуры лягушки после блокады аксонного транспорта в нерве // Вестник проблем биологии и медицины. УАННП. Харьков, — 1997. — № 10. — С. 56—61.

4. Пушкарев Ю. П., Иванова О. И. Феноменология и хронология нервно-трофического дефицита // Нервная система — Ленинград. — 1988. — № 27 — С. 103—110.

5. Сябро П. И., Макий Е. А., Иванова О. И. Действие различных концентраций колхицина на проведение возбуждения по нерву. Москва, — 1982. — 13 с. — Рукопись деп. в ВНИИМИ, № Д 4611.

6. Иванова О. И., Кличко Ю. В. Колхицин не оказывает избирательного действия на проведение возбуждения по афферентным и эфферентным волокнам нерва // Сб. н. тр. Социально-медицинские аспекты охраны здоровья. Днепропетровск, — 1995. — С. 80.

7. Макий Е. А., Иванова О. И. Зміни викликані біоелектричної активності периферичного нерва та спинного мозку в умовах блокади аксоплазматичного транспорту // Сб. н. пр. Експериментальна та клінічна фізіологія. Львів, — 1995. — С. 217.

8. Макий Е. А., Иванова О. И. Изменения в проведении возбуждения по чувствительным и двигательным волокнам нерва при нарушении аксоплазматического транспорта // Сб. н. тр. Биологические и технические системы регулирования. Днепропетровск, — ДГУ, — 1995. — С. 54.

9. Макий Е. А., Иванова О. И. Характеристика потенциалов действия икроножной мышцы крысы в условиях блокады аксоплазматического транспорта и сохранения проведения возбуждения по нерву // Тезисы докл. всесоюзного симпозиума «Физиология медиаторов. Периферический синапс.» Казань, — 1984. — С. 106.

10. Иванова О. И., Макий Е. А. Вплив різних концентрацій колхіцину на проведення збудження по нерву і спинному мозку // XI з'їзд Українського фізіологічного товариства. Тези доповідей. Дніпропетровськ, — 1982. — С. 172.

11. Иванова О. И. Влияние блокады аксоплазматического транспорта на сократительную способность мышцы при регенерации нерва // II республиканская конференция молодых ученых-медиков УССР: Тезисы докл. Львов, — 1979. — С. 45.

АННОТАЦИЯ

Иванова О. И. Влияние колхицина на проведение возбуждения в нервно-мышечной системе.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 — физиология человека и животных, Киевский государственный университет имени Тараса Шевченко, Киев, 1997 г.

Защищается 11 научных работ и диссертация, в которых изложены данные о роли аксонного транспорта в физиологии и патологии процессов возбуждения в нервной системе. Обнаружено, что блокада аксонного транспорта с помощью алкалоида колхицина приводит к нарушению проведения возбуждения в нерве, нервно-мышечном соединении, спинном мозге. Описана динамика этого процесса, изучено участие аксонного транспорта в процессах физиологической регенерации нерва. Предложена модель разделения импульсных и неимпульсных влияний с нерва на мышцу у млекопитающих.

ANNOTATION

Ivanova O. I. The influence of colchicine on the excitement conduction in the neuromuscular system.

The thesis for obtaining scientific degree of Candidate of Biological Sciences on speciality 03.00.13—physiology of man and animals, Taras Shevchenko Kyiv University, Kyiv; 1997.

11 papers containing data about the role of axon transport in physiological and pathological processes of excitement in the nervous system are presented for scientific degree. It has been found out that the axon transport blockade caused by alkaloid of colchicine leads to the impairment of excitement conduction in the nerve, neuromuscular junction, spinal cord. The dynamics of the process has been described. The role of axon transport in the processes of physiological regeneration has been studied. The model of separate impulse and non-impulse impacts from the nerve on the muscle has been suggested.

Ключові слова: аксонний транспорт, колхіцин, збудження, нерв, спинний мозок, м'яз.

КРИВАТОННА

Д. С. Криватонна, кандидат медических наук, доцент кафедри фізіології та біохімії Львівського державного університету імені Івана Франка. Львів, 1997.

КРИВАТОННА

Д. С. Криватонна, кандидат медических наук, доцент кафедри фізіології та біохімії Львівського державного університету імені Івана Франка. Львів, 1997.

Підписано до друку 14.05.97. Формат 60x84/16.
Папір друкарський. Високий друк. Ум. фарб. відб. 6.
Ум. друк. арк. 1,16. Тираж 100 прим. Зам. 584.
Друкарня заводу ім. Петровського,
320003, м. Дніпропетровськ, вул. Марата, 2.

AB 37.907

AB 37.907