

DOI: 10.26693/jmbs05.04.086

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

Родинський О. Г., Ткаченко С. С., Маража І. О.

## ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЕЛЕКТРИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ІНТЕРНЕЙРОННИХ ПУЛІВ СПИННОГО МОЗКУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПОАНДРОГЕНЕМІЇ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпро, Україна

tkachenkoss@i.ua

*Метою дослідження* був аналіз особливостей біоелектричної активності інтернейронів дорсального рогу спинного мозку в умовах тривалої гіпоандрогенемії.

Дослідження було виконане на щурах самця лінії Wistar. Андрогенемію було модельовано шляхом двобічної орхектомії.

Дорсальний корінець L<sub>5</sub> стимулювали за допомогою біполярних електродів. Відповідь реєстрували у фокусі максимальної активності за допомогою монополярного електрода. Досліджувалися поріг, хронаксія, латентний період, загальна тривалість потенціалу дорсальної поверхні спинного мозку, тривалість та амплітуда аферентного піку, N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>-компонентів та Р-хвилі, а також процеси пресинаптичного гальмування за допомогою методу нанесення парних стимулів з інтервалом між ними від 2 до 1000 мс

Поріг виникнення потенціалу дорсальної поверхні спинного мозку збільшувався до 230,77±2,33 %, хронаксія зменшувалась на 18,28±2,31 %. Амплітуда аферентного піку зросла на 98,33±5,88 %, N<sub>1</sub> на 51,08±2,86 %, N<sub>2</sub> на 49,64±2,40 %, N<sub>3</sub> на 207,41±±4,82 %. Амплітуда Р-хвилі демонструвала тенденцію до зростання. Латентний період зменшувався до 47,27±3,85 %, Загальна тривалість потенціалу дорсальної поверхні спинного мозку зменшувалась до 78,40±3,32%. Тривалість Р-хвилі зменшилась до 73,72±3,2 %. Інші компоненти відповіді достовірних змін не зазнали. При застосуванні парних стимулів швидкість зростання амплітуди N<sub>1</sub>-компоненту другої відповіді у тварин з орхектомією відставала від значень контрольної групи, особливо при інтервалах від 6 до 50 мс.

Отримані результати демонструють розвиток різноспрямованих процесів в структурах заднього рогу спинного мозку за умов експериментальної гіпоандрогенемії. Так, незважаючи на підвищення порогу виникнення потенціалу дорсальної поверхні спинного мозку у тварин піддослідної групи, ймовірніше за рахунок зниження збудливості первинних аферентів, активність інтернейронного пулу

збільшується, насамперед за рахунок розгальмування сегментарних та несегментарних інтернейронів, та деякого збільшення активності нейронів желатинозної субстанції, про що свідчить тенденція до зростання амплітуди Р-хвилі. Щодо нервової передачі у структурах заднього рогу спинного мозку, то за умов тривало існуючого дефіциту тестостерону спостерігається гальмування сигналів з частотою слідування понад 20 Гц.

**Ключові слова:** спинний мозок, дорсальний рог, інтернейрон, андроген.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Наукова робота проведена у рамках НДР «Механізми функціонування центральної та периферійної нервової системи за нормальних та патологічних умов», № державної реєстрації 0114U000932.

**Вступ.** Низка досліджень підтверджують меншу ноцицептивну чутливість у чоловіків ніж у жінок у багатьох моделях глибокого тканинного болю. Гонадні гормони модулюють відповіді в первинних аферентах, нейронах дорсального рогу та надспинальних ділянках, але напрямок модуляції є змінним [1].

Активність андрогенів у центральній нервовій системі, як і в інших тканинах, опосередковується андрогенним рецептором. Дослідження локалізації андрогенних рецепторів в спинному мозку методом імуногістохімії виявило імунореактивність як в передньому так і в задньому розі [2].

Задні роги сірої речовини отримують і обробляють багато сенсорної інформації і призводять до швидкої рефлекторної реакції. Системне застосування естрадіолу або тестостерону помітно знижує латентність цих реакцій [3].

Проте, існує інформація про зниження ноцицептивної чутливості, викликане дією тестостерону, що супроводжується підвищенням латентного періоду захисних реакцій на больовий подразник [4].

Такі суперечливі дані спонукали нас до більш детального вивчення процесів збудження, які

проходять у спинному мозку, зокрема, дорсальному розі, у тварин з експериментальною гіпоандрогенемією.

**Мета роботи** – вивчення особливостей біоелектричної активності інтернейронів дорсального рогу сірої речовини спинного мозку в умовах тривалої гіпоандрогенемії шляхом аналізу викликаних потенціалів дорсальної поверхні спинного мозку (ПДП СМ).

**Матеріал та методи дослідження.** Для аналізу вказаних процесів було обрано метод реєстрації ПДП СМ, оскільки він відображає активність пре- та постсинаптичних сегментарних і несегментарних нейронів СМ [5]. Його компоненти дають нам інформацію про біоелектричні процеси на вході у СМ та безпосередній функціональний стан його клітин та волокон за різних умов [6,7]. АП відображає активність низькопорогових м'язових та шкірних аферентів.  $N_1$  та  $N_2$  – компоненти виникають при збудженні інтернейронів дорсального рогу СМ як результат їх постсинаптичної активації.  $N_1$  – компонент характеризує активність переважно несегментарних інтернейронів, а  $N_2$  – сегментарних.  $N_3$ -компонент характеризує постсинаптичну активність несегментарних інтернейронів у відповідь на активацію більш високопорогових аферентних волокон [8]. Р-хвиля відповідає деполяризації нейронів желатинозної субстанції, а також пов'язана з процесами пресинаптичного гальмування [9].

Дослідження було виконане на щурах самця лінії Wistar віком 5-6 міс та вагою 180-260 г, що були розділені на піддослідну ( $n=18$ ) та контрольну ( $n=13$ ) групи. Андрогенемію було модельовано шляхом двобічної орхектомії. Обидві групи тварин утримували в стандартних умовах віварію ( $t^{\circ} 22\pm 2^{\circ}C$ , світлий/темний цикл – 12/12 год) на стандартній дієті протягом 120 діб, після чого тварини були задіяні у гострому експерименті. Для наркозу вводили тіопентал натрію в дозі 50 мг/кг маси.

У гострому досліді, під загальною анестезією виконувалась ламінектомія та розтин твердої мозкової оболонки. Спинний мозок перетинався на рівні  $Th_{12}$ - $L_1$  та заливався вазеліновою оливою для попередження висихання та підтримки оптимальної температури. Для усунення проявів спинального шоку тварина витримувалася 3 години за температури 36–37 °C [5, 8, 10, 11].

Дорсальний корінець  $L_5$  стимулювали за допомогою біполярних електродів прямокутними подинними імпульсами тривалістю 0,3 мс, амплітудою від 1 до 5 порогів, та парними стимулами з інтервалом нанесення від 2 мс до 1000 мс. ПДП СМ відводився у фокусі максимальної активності за допомогою монополярного срібного кулькового електрода. Референтний електрод розміщувався на м'язах

нижньої кінцівки [10]. Для отримання ПДП СМ було застосовано супрамаксимальну силу подразнення (5 П), за умов якої спостерігалось максимальне насичення ПДП; подальше підвищення інтенсивності подразнення не викликало збільшення амплітуди цього потенціалу [10].

Досліджувалися наступні характеристики: поріг та хронаксія, тривалість латентного періоду, загальна тривалість ПДП, тривалість та амплітуда аферентного піку (АП),  $N_1$ ,  $N_2$ ,  $N_3$ -компонентів та Р-хвилі [5, 8]. Також досліджували зміни деполяризації первинних аферентів внаслідок процесів пресинаптичного гальмування за допомогою методу нанесення парних стимулів з інтервалом між ними від 2 до 1000 мс [10, 11]. Оцінювали відновлення амплітуди  $N_1$ -компоненту у відповідь на другий (тестуючий) стимул у відсотках по відношенню до амплітуди  $N_1$ -компоненту відповіді на перший (кондиціонуючий) стимул при поступовому збільшенні інтервалу між імпульсами подразнення.

Статистичну обробку матеріалів дослідження проводили з використанням методів біометричного аналізу, реалізованих в ліцензійних пакетах EXCEL-2003® і STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., Serial No. AGAR909E415822FA). Вірогідність оцінювали за допомогою методів параметричної статистики (критерій t Стьюдента). Зміни показників вважали вірогідними при  $p < 0,05$ .

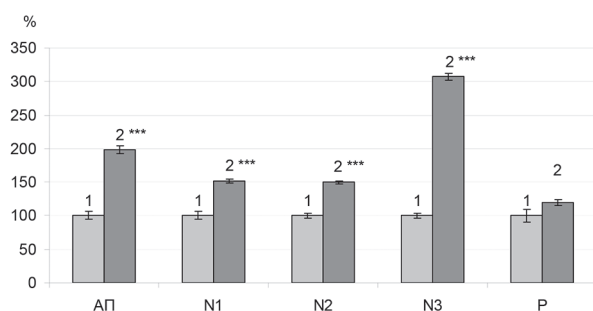
Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

**Результати дослідження.** В контрольній групі тварин поріг виникнення ПДП, який ми оцінювали за появою аферентного піку, складав  $0,91\pm 0,097$  мкА ( $n=13$ ). В групі тварин з експериментальною гіпоандрогенемією цей показник достовірно збільшувався до  $230,77\pm 2,33$  % ( $2,1\pm 0,049$  мкА,  $n=18$ ,  $p < 0,001$ ).

Хронаксія у тварин контрольної групи в середньому дорівнювала  $102,31\pm 1,24$  мкс ( $n=13$ ). В групі тварин з експериментальною гіпоандрогенемією цей показник зменшувався на  $18,28\pm 2,31$  % ( $83,61\pm 1,93$  мкс,  $n=18$ ,  $p < 0,001$ ).

У тварин з тривалою гіпоандрогенемією спостерігалось достовірне ( $p < 0,001$ ) збільшення амплітуди АП,  $N_1$ ,  $N_2$ , та  $N_3$  компонентів. Так, амплітуда АП зросла на  $98,33\pm 5,88$  %,  $N_1$  на  $51,08\pm 2,86$  %,  $N_2$  на  $49,64\pm 2,40$  %,  $N_3$  на  $207,41\pm 4,82$  %. Амплітуда Р-хвилі демонструвала тенденцію до зростання

(119,61±4,92 % відносно показника контрольної групи), але достовірною ця зміна не була ( $p>0,05$ ) (рис. 1).



**Рис. 1.** Амплітуда компонентів ПДП СМ (%):

АП – аферентного піку, N1 - N3, P – відповідних компонентів: 1 – контрольні тварини; 2 – тварини з експериментальною гіпоандрогенемією. За 100 % прийняті значення у контрольній групі тварин.

**Примітки:** Вірогідність: \*\*\* –  $p<0,001$  у порівнянні з контрольною групою.

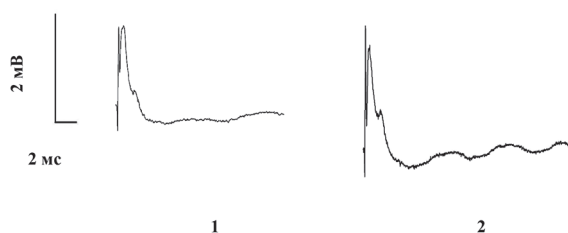
Абсолютні значення амплітуди компонентів ПДП СМ у тварин контрольної групи та групи з експериментальною гіпоандрогенемією наведено у табл. 1.

**Таблиця 1** – Амплітуда компонентів ПДП СМ за умов експериментальної гіпоандрогенемії, М±m

Амплітуда	Контроль	Тварини з ЕГ
Аферентний пік	1,21±0,07 мВ (n=13)	2,38±0,14 мВ (n=18)***
N <sub>1</sub> -компонент	1,39±0,08 мВ (n=13)	2,10±0,06 мВ (n=18)***
N <sub>2</sub> -компонент	1,39±0,05 мВ (n=13)	2,08±0,05 мВ (n=18)***
N <sub>3</sub> -компонент	0,27±0,01 мВ (n=13)	0,83±0,04 мВ (n=18)***
P-хвиля	0,51±0,05 мВ (n=13)	0,61±0,03 мВ (n=18)

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

Осцилограми викликаних відповідей (ПДП СМ) представлені на рис. 2.



**Рис. 2.** Осцилограми ПДП СМ:

1 – контрольні тварини; 2 – тварини з експериментальною гіпоандрогенемією

Латентний період виникнення ПДП СМ у щурів контрольної групи становив 0,55±0,02 мс (n=13), тоді як у тварин з експериментальною гіпоандрогенемією тривалість ЛП зменшувалась майже удвічі, та становила 47,27±3,85 % у порівнянні з контролем (0,26±0,01 мс,  $p<0,001$ ; n=18).

Тривалість ПДП є показником, який відображує швидкість проведення по основних структурах заднього рогу СМ, які входять у його сегменти, та активність його нейронів. Було виявлено, що загальна тривалість ПДП СМ контрольної групи складала 84,9±2,04 мс (n=13). В групі тварин з експериментальною гіпоандрогенемією цей показник зменшився до 78,40±3,32% (66,56±2,21 мс, n=18,  $p<0,001$ ).

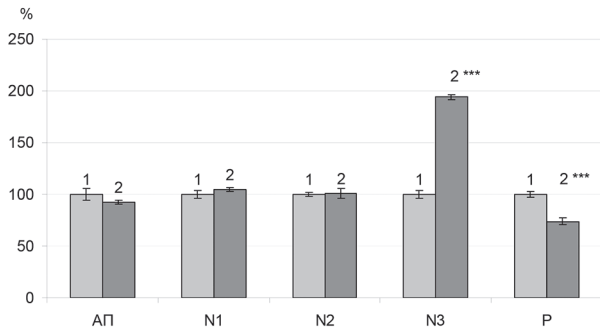
Тривалість компонентів ПДП змінювалася різноспрямовано. Так, тривалість АП виказувала тенденцію до зменшення (на 7,27±1,96 %), N<sub>1</sub> тенденцію до збільшення (на 4,76±2,27 %), а N<sub>2</sub> залишилась майже без змін (різниця не перевищувала 0,76 %). Достовірність цих даних була недостатньою ( $p>0,05$ ). Для N<sub>3</sub> цей показник збільшився майже вдвічі, становивши 193,96±2,42 %; тривалість P-хвилі зменшилась до 73,72±3,2 % від контрольного значення з високим рівнем достовірності ( $p<0,001$ ) (табл. 2, рис. 3).

**Таблиця 2** – Тривалість компонентів потенціалу дорсальної поверхні спинного мозку за умов експериментальної гіпоандрогенемії, М±m

Тривалість	Контроль	Тварини з ЕГ
Аферентний пік	0,55±0,03 мс (n=13)	0,51±0,01 мс (n=18)
N <sub>1</sub> -компонент	0,84±0,03 мс (n=13)	0,88±0,02 мс (n=18)
N <sub>2</sub> -компонент	2,63±0,05 мс (n=13)	2,65±0,12 мс (n=18)
N <sub>3</sub> -компонент	1,49±0,05 мс (n=13)	2,89±0,07 мс (n=18)***
P-хвиля	79,38±2,01 мс (n=13)	58,52±1,87 мс (n=18)***

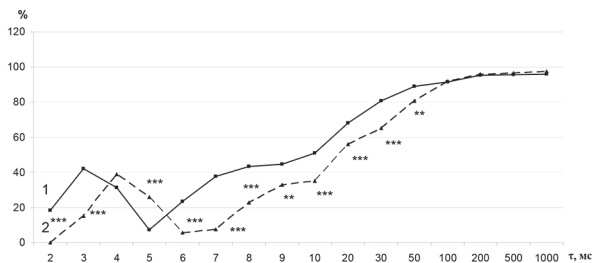
**Примітка:** рівень вірогідності: \*\*\* –  $p<0,001$ .

У тварин контрольної групи відновлення амплітуди N<sub>1</sub>-компонента другого ПДП СМ мало двофазний характер. На часовому проміжку від 0 до 3 мс спостерігалось збільшення, а з 3 по 5 мс – пригнічення її зростання. Починаючи з міжстимульного інтервалу 6 мс зростання амплітуди N<sub>1</sub>-компоненту відповіді на тестуючий стимул мало майже лінійний характер, дещо уповільнюючись на проміжку 200-1000 мс (рис. 4). Графік відновлення для тварин з гіпоандрогенним станом мав аналогічний профіль. Проте, вперше N<sub>1</sub>-компонент другої відповіді з'являвся при міжстимульному інтервалі 3 мс, а пригнічення росту його амплітуди спостерігалось



**Рис. 3.** Зміна тривалості компонентів ПДП СМ (%): АП – аферентного піку, N1 - N3, P – відповідних компонентів. 1 – контрольні тварини; 2 – тварини з експериментальною гіпоандрогенемією. За 100 % прийняті значення в контрольній групі тварин.

**Примітка:** Рівень вірогідності \*\*\* –  $p < 0,01$  за відношенням до відповідних значень контрольної групи.



**Рис. 4.** Відновлення  $N_1$ -компоненту ПДП СМ у відповідь на тестуючий стимул при подразненні подвійними стимулами з різним інтервалом нанесення. 1 – контрольні тварини; 2 – тварини з експериментальною гіпоандрогенемією

**Примітка:** Рівень вірогідності \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  за відношенням до значень контрольної групи.

при інтервалах з 4 по 7 мс. Швидкість подальшого зростання амплітуди  $N_1$ -компоненту також відставала від значень контрольної групи. Ступінь відновлення зазначеного компоненту в обох групах збігалась лише при інтервалах між подразненнями 100 мс.

**Обговорення отриманих результатів.** У посткастраційному періоді, особливо у віддалені його строки, через посилення впливу вільних радикалів на нервові волокна [12, 13] та зниження ефективності дії нейротрофічних факторів [14], цілком можливе виникнення нейродегенерації, чим можна пояснити зниження збудливості аферентних волокон дорсального корінця, а, отже, й підвищення порогу виникнення ПДП СМ.

Іншою причиною збільшення порогу збудження первинних аферентів може бути зниження концентрації внутрішньоклітинного кальцію [15, 16] та підвищення трансмембранного потенціалу через нестачу чоловічих стероїдів, оскільки відомо, що андрогени можуть здійснювати швидкий негеномний

вплив, збільшуючи цитоплазматичний рівень цього іону [15, 17].

Деяке зменшення хронаксії цілком відповідає залежності корисного часу (мінімальної тривалості) подразнюючого стимулу від його інтенсивності.

Гіпоандрогенемія може викликати порушення репаративних процесів у мієлінових нервових волокнах, а тривалий стан дефіциту тестостерону – спричинити демієлінізацію [18]. Пошкодження ж мієлінової ізоляції може призвести до ефаптичного ефекту [19] та обумовити збільшення амплітуди аферентного піку ПДП у щурів експериментальної групи, оскільки він відображає саме відповідь первинних аферентів (рис. 2).

Задні роги сірої речовини СМ обробляють багато сенсорної інформації, викликані, серед іншого, гострою стимуляцією шкіри і обумовлюють швидку рефлекторну реакцію [3]. Системне застосування естрадіолу або тестостерону помітно впливає на її швидкість, знижуючи латентність відсмикування стопи в тесті з гарячою водою [3].

Однотимчасне застосування інгібітора ароматази блокує дію тестостерону, демонструючи, отже, що вона опосередкована перетворенням тестостерону в естроген за допомогою цього ферменту. Крім того, викликане тестостероном або естрадіолом зменшення латентності відсмикування стопи блокується застосуванням антагоніста рецептора естрадіолу, тамоксифена, що вказує на те, що ефекти в значній мірі опосередковані взаємодією естрадіолу з рецепторами естрогену. У сукупності ці дані свідчать про те, що статеві стероїди модулюють чутливість до шкідливих подразників, можливо, шляхом прямого впливу на рівні дорсального рогу спинного мозку [4, 5, 20].

Існують дані про синтез естрогенів в багатьох нейронах I-III шарів спинного мозку і їх роль у регуляції болю, на що вказує швидке (на протязі 1 хвилини) зниження поведінкової чутливості до теплового больового подразника за умов гострої блокади ендogenous синтезу естрогенів [21]. Такий саме швидкий ефект, але зворотнього напрямку був отриманий місцевим застосуванням естрадіолу [21]. Є дослідження, що доводять наявність естрогенних рецепторів  $ER\alpha$  в I - V пластинах спинного мозку, і особливо в I - II, а також X, особливо в нижньому поперековому і крижових сегментах [22].

Відомо, що естрогени шляхом активації  $ER\alpha$  у дорсальному розі сірої речовини спинного мозку зменшують збудливу глутаматергічну передачу при подразненні аферентних волокон як  $A\delta$ - так і C-типу [23]. Дефіцит же андрогенів може призводити до порушення синтезу естрогенів у дорсальному розі СМ та до виникнення зворотнього ефекту, що пояснює збільшення амплітуди компонентів  $N_1 - N_3$

ПДП СМ, адже останні характеризують активність постсинаптичних структур заднього рогу, зокрема, сегментарних ( $N_1$ ,  $N_2$ ) та несегментарних інтернейронів ( $N_3$ ) [5, 24]. Також відомо, що застосування селективного блокатора  $ER\alpha$  призводить до збільшення частоти виникнення спонтанних збуджуючих постсинаптичних струмів у нейронах желатинозної субстанції [23]. Їх часова та просторова сумація на інтернейронах дорсального рогу може сприяти зростанню активності вказаних нейронних груп, що відображається у зміні амплітуди відповідних  $N$ -компонентів, та збільшенню кількості несегментарних інтернейронів, які відповідають на подразнення аферентних волокон дорсального корінця, про що свідчить зростання тривалості  $N_3$  компонента [5] (рис. 3).

Пригнічення  $N_1$  компоненту другого ПДП в експериментальній групі при подвійному подразненні дорсального корінця з інтервалами 5-50 мс може говорити про активування пресинаптичного гальмування інтернейронів IV пластини сірої речовини [25], у тому числі з боку желатинозної субстанції, нейрони якої здебільшого беруть участь у формуванні Р-хвилі [5, 8, 9]. На користь цього говорить відповідність проміжку з 5-ї по 50-ту мс тривалості позитивного компоненту першої викликані відповіді, амплітуда якої у піддослідній групі вказала тенденцію до збільшення на 19 % у порівнянні з контрольними тваринами (рис. 2).

Додатковим обґрунтуванням вищевикладеного може бути той факт, що селективний антагоніст  $ER\alpha$  пресинаптично полегшує збуджуючу синаптичну передачу до нейронів желатинозної субстанції, отже за умов нестачі андрогенів, що може призвести до зниження продукції естрогенів шляхом ароматизації тестостерону в задніх рогах СМ, може посилюватись пресинаптичне гальмування первинних аферентів її гальмівними нейронами [23].

**Висновки.** Отримані результати демонструють розвиток різноспрямованих процесів в структурах заднього рогу спинного мозку за умов експериментальної гіпоандрогенемії. Так, незважаючи на підвищення порогу виникнення ПДП СМ у тварин піддослідної групи, ймовірніше за рахунок зниження збудливості первинних аферентів, активність інтернейронного пулу збільшується, насамперед за рахунок розгальмування сегментарних та несегментарних інтернейронів, та деякого збільшення активності нейронів желатинозної субстанції. Щодо нервової передачі у структурах заднього рогу спинного мозку, то за умов тривало існуючого дефіциту тестостерону спостерігається гальмування сигналів з частотою слідування понад 20 Гц.

**Перспективи подальших досліджень у цьому напрямку.** Перспективним бачиться вивчення впливу зміненої активності інтернейронного пулу на мотонейрони спинного мозку як центральну ланку соматичної рефлекторної дуги.

## References

1. Traub RJ, Ji Y. Sex differences and hormonal modulation of deep tissue pain. *Front Neuroendocrinol.* 2013; 34(4): 350-66. doi: 10.1016/j.yfrne.2013.07.002
2. Lumbroso S, Sandillon F, Georget V, Lobaccaro JM, Brinkmann AO, Privat A, et al. Immunohistochemical localization and immunoblotting of androgen receptor in spinal neurons of male and female rats. *Eur J Endocrinol.* 1996 May; 134(5): 626-32. DOI: 10.1530/eje.0.1340626
3. Evrard HC, Balthazart J. Aromatase (estrogen synthase) activity in the dorsal horn of the spinal cord: functional implications. *Ann N Y Acad Sci.* 2003 Dec; 1007: 263-71. DOI: 10.1196/annals.1286.025
4. Hau M, Dominguez OA, Evrard HC. Testosterone reduces responsiveness to nociceptive stimuli in a wild bird. *Horm Behav.* 2004 Aug; 46(2): 165-70.
5. Rodyn's'kyi OH. *Neyrofiziologichnyy analiz funktsionuvannya spynnoho mozku v umovakh osoblyvy vysokoyi zbudlyvosti ta mozhlyvosti yiyi korektsiyi* [Neurophysiological analysis of spinal cord function in conditions of particularly high excitability and the possibility of its correction]. Abstr. Dr. Sci. (Med.). Donetsk; 2007. 38 s. [Ukrainian]
6. Shugurov OO. Potentsialy dorsal'noy poverkhnosti pri stimulyatsii kozhnykh pokrovov nogi koshki [Potentials of the dorsal surface during stimulation of the skin of a cat's leg]. *Visnyk Dnipropetrovs'kogo universytetu.* 2006; 14(1): 210-7. [Russian]
7. Shuhurov OO. Chastotni parametry masovykh potentsialiv spynnoho mozku pry rytmychniy stymulyatsiyi shkirnykh nerviv [Frequency parameters of mass potentials of the spinal cord during rhythmic stimulation of cutaneous nerves]. *Visnyk Dnipropetrovs'koho universytetu.* 2007; 15(1): 209-15. [Ukrainian]
8. Shugurov OA. Vyzvanyye potentsialy spinnogo mozga [Evoked potentials of the spinal cord]. D: Nauka i osvita; 2006. 319 s. [Russian]
9. Shuhurov OO, Shuhurov OA. Yssledovanye vozniknovenyya pozdnykh pozytyvnykh voln PDP [Investigation of the occurrence of late positive waves of RAP]. *Visnyk Dnipropetrovs'koho universytetu (Biologiya, Ekologiya).* 2002; 1(10): 149-54. [Russian]. doi: 10.15421/021623
10. Makiy YeA, Nerush PA, Rodinskiy AG. Parametry potentsiala dorsal'noy poverkhnosti spinnogo mozga kryis pri eksperimental'nomu gipertireoze [Parameters of the potential of the dorsal surface of the spinal cord of rats in experimental hyperthyroidism]. *Neyrofiziologiya.* 2001; 33(4): 279-85. [Russian]

11. Rodyns'kyi OH, Tkachenko SS. Aktyvnist interneuronnykh puliv spynnoho mozku za umov eksperymental'noyi menopauzy [Activity of interneuronal spinal cord pools under experimental menopause]. *Fiziolohichnyy zhurnal*. 2015; 61(5): 28-34. [Ukrainian]
12. Dmitriyeva OA, Sherstyuk BV. Vliyaniye stress-indutsirovannogo snizheniya urovnya testosterona na gistokhimicheskiye izmeneniya polovykh organov krysa [The effect of stress-induced decrease in testosterone levels on histochemical changes in rat genital organs]. *Pacific Medical Journal*. 2007; 3: 55-7. [Russian]
13. Pike CJ, Carroll JC, Rosario ER. Protective actions of sex steroid hormones in Alzheimer's disease. *Front Neuroendocrinol*. 2009 July; 30(2): 239-58.
14. Hammond J, Le Q, Goodyer C. Testosterone-mediated neuroprotection through the androgen receptor in human primary neurons. *Journal of Neurochemistry*. 2001; 77: 1319-26.
15. Foradori CD, Weiser MJ, Handa RJ. Non-genomic Actions of Androgens. *Front Neuroendocrinol*. 2008 May; 29(2): 169-81.
16. Sarkey S, Azcoitia I, Garcia-Segura LM. Classical androgen receptors in non-classical sites in the brain. *Horm Behav*. 2008 May; 53(5): 753-64.
17. Asuthkar S, Demirkhanyan L, Sun X, Elustondo PA, Krishnan V, Baskaran P, et al. The TRPM8 Protein Is a Testosterone Receptor. *J Biol Chem*. 2015 Jan 30; 290(5): 2670-88. doi: 10.1074/jbc.M114.610873
18. Hussain R, Ghomari AM, Bielecki B. The neural androgen receptor: a therapeutic target for myelin repair in chronic demyelination. *Brain*. 2013; 136: 132-46.
19. Makiy EA, Rodinsky OG, Mozgunov OV Ephaptic excitation in the nervous system and conditions of its occurrence in pathological conditions. *Medical perspectives*. 2003; 8(1): 37-42.
20. Evrard HC, Balthazart J. Aromatization of androgens into estrogens reduces response latency to a noxious thermal stimulus in male quail. *Horm Behav*. 2004; 45(3): 181-9. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2003.09.014
21. Evrard HC, Balthazart J. Rapid regulation of pain by estrogens synthesized in spinal dorsal horn neurons. *J Neurosci*. 2004; 24(33): 7225-9.
22. Vanderhorst VG, Terasawa E, Ralston HJ, Vanderhorst VG. Estrogen receptor- $\alpha$  immunoreactive neurons in the brainstem and spinal cord of the female rhesus monkey: species-specific characteristics. *Neuroscience*. 2009; 158(2): 798-810.
23. Zhong YQ, Li KC, Zhang X. Potentiation of excitatory transmission in substantia gelatinosa neurons of rat spinal cord by inhibition of estrogen receptor alpha. *Mol Pain*. 2010; 6: 92. doi: 10.1186/1744-8069-6-92
24. Lonchamp P, Chanelet J. Analyse unitaire des effets de stimulation des relais neuroniques primaires cutanes de la maele de chat. *C R Soc Biol*. 1973; 6-7(167): 895-900.
25. Szekeley G, Kozaras B. Electron microscopic identification of postsynaptic dorsal root terminals: a possible substrate of dorsal root potentials in the frog spinal cord. *Exp Brain Res*. 1977; 29(3/4): 531-9.

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

### **ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА АНДРОГЕНОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ИНТЕРНЕЙРОННОГО ПУЛА СПИННОГО МОЗГА**

**Родинский А. Г., Ткаченко С. С., Маража И. А.**

**Резюме.** Целью исследования был анализ особенностей биоэлектрической активности интернейронов дорсального рога спинного мозга в условиях длительной гипоандрогемии.

Исследование было выполнено на крысах самцах линии Wistar. Андрогенемия была моделирована путем двусторонней орхэктомии. Дорсальный корешок L5 стимулировали с помощью биполярных электродов. Ответ регистрировали в фокусе максимальной активности с помощью монополярного электрода. Исследовались порог, хронаксия, латентный период, общая продолжительность потенциала дорсальной поверхности спинного мозга, продолжительность и амплитуда афферентного пика, N1, N2, N3-компонентов и P-волны, а также процессы пресинаптического торможения с помощью метода нанесения парных стимулов с интервалом между ними от 2 до 1000 мс.

Порог возникновения потенциала дорсальной поверхности спинного мозга увеличивался до  $230,77 \pm 2,33\%$ , хронаксия уменьшалась на  $18,28 \pm 2,31\%$ . Амплитуда афферентного пика выросла на  $98,33 \pm 5,88\%$ , N1 на  $51,08 \pm 2,86\%$ , N2 на  $49,64 \pm 2,40\%$ , N3 на  $207,41 \pm 4,82\%$ . Амплитуда P-волны демонстрировала тенденцию к росту. Латентный период уменьшался до  $47,27 \pm 3,85\%$ , Длительность потенциала дорсальной поверхности спинного мозга уменьшалась до  $78,40 \pm 3,32\%$ . Продолжительность P-волны уменьшилась до  $73,72 \pm 3,2\%$ . Другие компоненты поверхности спинного мозга достоверных изменений не претерпели. При применении парных стимулов скорость роста амплитуды N1-компонента второго вызванного ответа у животных с орхэктомией отставала от значений контрольной группы, особенно при интервалах от 6 до 50 мс.

Полученные результаты демонстрируют развитие разнонаправленных процессов в структурах заднего рога спинного мозга в условиях экспериментальной гипоандрогенемии. Так, несмотря на повышение порога возникновения потенциала дорсальной поверхности спинного мозга у животных подопытной группы, вероятно за счет снижения возбудимости первичных афферентов, активность интернейронного пула увеличивается, прежде всего за счет растормаживания сегментарных и несегментарных интернейронов, и некоторого увеличения активности нейронов желатинозной субстанции, о чем свидетельствует тенденция к росту амплитуды Р-волны. Касательно синаптической передачи в структурах заднего рога спинного мозга, то при длительно существующем дефиците тестостерона наблюдается торможение сигналов с частотой следования более 20 Гц.

**Ключевые слова:** спинной мозг, дорсальный рог, интернейрон, андроген.

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

### **Influence of Androgen Deficiency on the Function of the Internal Neural Spinal Pool**

**Rodinsky O. G., Tkachenko S. S., Marazha I. O.**

**Abstract.** *The purpose of the study was to analyze the features of bioelectric activity of dorsal horn interneurons of the gray matter of the spinal cord under conditions of prolonged hypoandrogenemia by analyzing evoked potentials of the dorsal surface of the spinal cord.*

*Materials and methods.* The study was performed on Wistar male rats 5-6 months of age and weighing 180-260 g, which were divided into experimental (n=18) and control (n = 13) groups. Androgenemia was modeled by bilateral orchectomy. The dorsal root of L5 was stimulated by bipolar electrodes. The potentials of the dorsal surface of the spinal cord was evoked in the focus of maximum activity using a monopolar electrode. Threshold and chronoxia, latent period duration, total potentials of the dorsal surface of the spinal cord duration, duration and amplitude of afferent peak, N1, N2, N3 components and P-waves were studied, as well as pre-synaptic inhibition processes using paired stimulus method with intervals between 2 and 1000 ms.

*Results and discussion.* The occurrence threshold for potentials of the dorsal surface of the spinal cord increased to  $230.77 \pm 2.33\%$  ( $p < 0.001$ ). Chronoxia in animals with experimental hypoandrogenemia decreased by  $18.28 \pm 2.31\%$  ( $p < 0.001$ ). In animals with hypoandrogenemia, the afferent peak amplitude increased by  $98.33 \pm 5.88\%$ , N1 increased by  $51.08 \pm 2.86\%$ , N2 increased by  $49.64 \pm 2.40\%$ , N3 increased by  $207.41 \pm 4.82\%$ . The P-wave amplitude showed an upward trend ( $p > 0.05$ ). The latent period of occurrence of potentials of the dorsal surface of the spinal cord decreased almost twice ( $47.27 \pm 3.85\%$ ). The overall duration of the potentials of the dorsal surface of the spinal cord decreased to  $78.40 \pm 3.32\%$  ( $p < 0.001$ ). The P-wave duration decreased to  $73.72 \pm 3.2\%$  of the control value. Other components of the potentials of the dorsal surface of the spinal cord did not undergo any significant changes. When using pairwise stimuli, the rate of increase of the amplitude of the N1 component of the second response in animals with orchectomy lagged behind the values of the control group, especially at intervals from 6 to 50 ms.

*Conclusion.* The results showed the development of multidirectional processes in the structures of the posterior horn of the spinal cord under conditions of experimental hypoandrogenemia. Thus, despite the increase in the occurrence of potentials of the dorsal surface of the spinal cord in the animals of the experimental group, probably by reducing the excitability of the primary afferents, the activity of the interneuron pool increases, primarily due to the inhibition of segmental and non-segmental interneurons, and some increase in the activity of the neuron amplitude of the P-wave. There is a slowdown of signals with a follow-up frequency exceeding 20 Hz with regard to nerve transmission in the structures of the posterior horn of the spinal cord, then under conditions of a long-term testosterone deficiency,

**Keywords:** spinal cord, dorsal horn, interneuron, androgen.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 10.04.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування