

ВПЛИВ ШТУЧНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ *IN VITRO* НА ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НЕЙРОНІВ ПІДЩЕЛЕПНОГО ТА ВЕРХНЬОГО ШИЙНОГО ГАНГЛІЇВ

Р. Л. Пархоменко^{1,a}, А. О. Настенко², О. Е. Пурнинь²

¹ Навчально-науковий Фізико-технічний інститут

² Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця

Анотація

Дослідження нейронів підщелепного ганглія викликає інтерес в зв'язку з дослідженням діабету, та порушенням слиновидільної функції в хворих на діабет. В даній роботі досліджено вплив діабету на електрофізіологічні функції нейронів підщелепного ганглія.

Ключові слова: нейрони підщелепного ганглія, верхній шийний ганглії, потенціали дії.

Вступ

Підщелепний ганглії (ПГ) є частиною автономної нервової системи і відповідає за активність слинних залоз. Наразі відомо, що при такому захворюванні як цукровий діабет, їх функціонування відхиляється від нормального. Це проявляється у порушенні функції вироблення слини у хворих на діабет ([1]). Отже, ПГ може виступати в якості моделі для дослідження залучення парасимпатичної нервової системи в патологічний процес. Метою роботи було встановити основні електрофізіологічні властивості мембрани нейронів ПГ контрольних здорових щурів в нормальному зовнішньоклітинному розчині під дією гіперглікемічного розчину (що моделює діабет), та дослідити характеристики потенціалів дії, що виникають у відповідь на їх внутрішньоклітинну стимуляцію: поріг, амплітуду, їх максимальну швидкість наростання та спаду та ширину на напіввисоті.

Дані показники, що характеризують електрофізіологічні властивості нейронів підщелепного ганглія, доцільно порівняти з властивостями нейронів Верхнього Шийного Ганглія (далі, ВШГ), який є частиною симпатичної нервової системи, і також іннервує слинні залози ([2, 3]).

1. Методика

Препарат

Дослідження проводилося *in vitro* на нейронах ПГ 3-тижневих щурів лінії Wistar, матеріал зібрано з дотриманням норм біоетики та вимог статті 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 р.). Було використано обидва цілі нефарбовані ганглії, які було екстрактовано з тварин разом зі сполучною тканиною, між

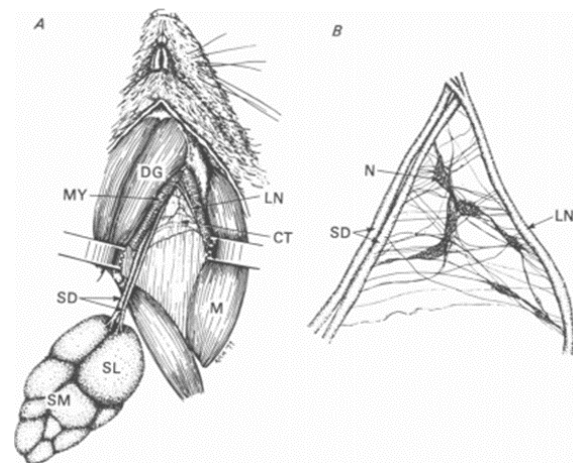


Рис. 1. Розташування підщелепного ганглія щура. А – клітини ганглія іннервують підщелепну (SM) та під'язикову (SL) слинні залози, знаходяться в тонкій сполучній тканині (CT) під мілогідним м'язом (MY). В - тонкий шар сполучної тканини знаходиться між язиковим нервом (LN) та слинними протоками (SD). (Запозичено з [4])

відрізком нерва *chorda tympani* та відрізком слинних проток (рис. 1). При процедурі екстракції ганглії постійно перебував в зовнішньоклітинному розчині, і кріпився до камери, дно якої заповнене агаром, за допомогою вольфрамових ниток, сполучна тканина з поверхні препарату видалялась так, щоб не порушити його структурну цілісність.

Електрофізіологічні вимірювання

Для дослідження електрофізіологічних властивостей був використаний метод одноелектродного внутрішньоклітинного відведення за допомогою під-

^aruslan200knk@mail.com

Таблиця 1. Експериментальні результати для нейронів ПГ та ВШГ.

| | Um, mV | Amp, mV | TP, mV | Rheobase, nA | Half-width, ms |
|--------------------|----------|---------|----------|--------------|----------------|
| Контроль ПГ(n=8) | -52 ± 4 | 60 ± 7 | -24 ± 7 | 0.08 ± 0.003 | 5 ± 1 |
| Діабет ПГ(n=8) | -43 ± 5* | 53 ± 10 | -15 ± 4* | 0.07 ± 0.003 | 5 ± 1 |
| Контроль ВШГ(n=19) | -46 ± 3 | 63 ± 6 | -24 ± 5 | 0.18 ± 0.07 | 3.1 ± 0.5 |
| Діабет ВШГ(n=12) | -46 ± 3 | 63 ± 6 | -24 ± 6 | 0.21 ± 0.09 | 3.2 ± 0.4 |

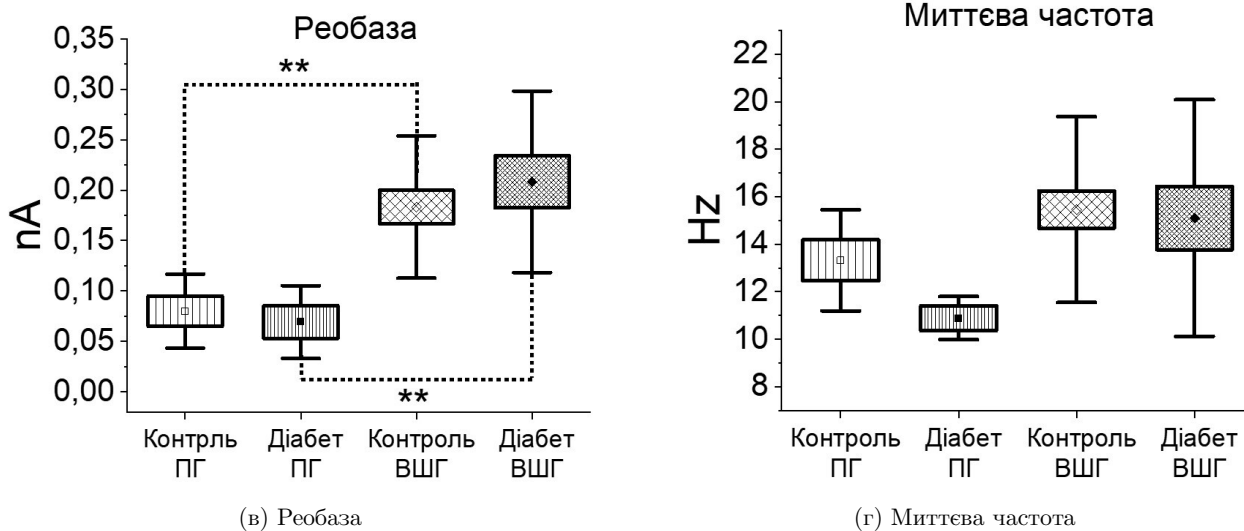
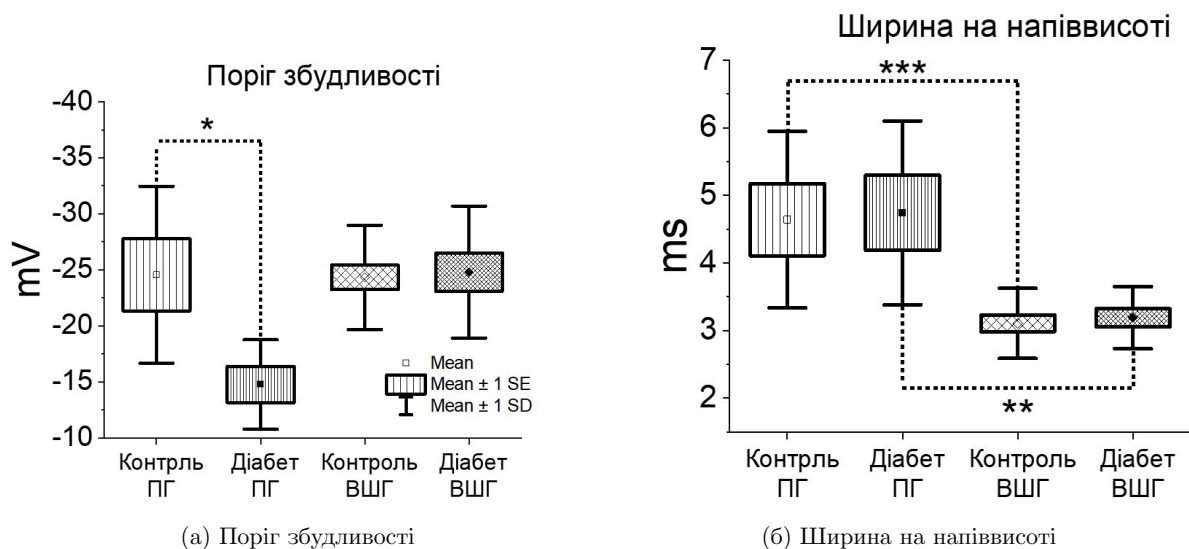


Рис. 2. Порівняння характеристик ПГ та ВШГ

силувача Axoclamp 2B Current and Voltage Clamp («Axon Instruments», США) в режимі міст. Сигнали оцифровувались аналогово-цифровим перетворювачем Digidata 1200A під керуванням комп'ютерної програми Clampfit 9.0 («Axon Instruments», США). Нейрони поміщались у контрольний зовнішньоклітинний розчин, що містив(в mM): NaCl – 140, KCl – 2.2, CaCl₂ – 2, MgCl₂ – 2, NERES – 10, C₆H₁₂O₆ – 12. Для гіперглікемічного розчину концентрація

C₆H₁₂O₆ збільшувалася до 30. Розчин доводився до рН = 7.4. Для заповнення мікроелектродів використовувався розчин KCl, 0.5 M. Для вимірів характеристик потенціалів дії (надалі, ПД) було використано протокол стимуляції, при якому струм починається з 0.1 nA, триває 100 мс, та збільшується на 0.1 nA на кожному проході, з перервами 100 мс.

* - < 0.05 порівнюючи з контролем

2. Результати

Об'єднані результати для ПГ та ВШГ наведено в (табл. 1). В таблиці, U_m - середній мембранний потенціал нейрона протягом вимірювання, A_{mp} - амплітуда потенціалів дії, T_P - мембранний потенціал, за якого виникає ПД, R_{eobase} - мінімальна величина амплітуди стимулюючого струму, за якої виникає ПД, і $Half-width$ - ширина піку ПД на напіввисоті. За результатами побудовано порівняльні графіки порогу збудливості (рис. 2(а)), ширини на напіввисоті (рис. 2(б)), та реобазис (рис. 2(в)). Окрім того, було порівняно миттєву частоту ПД - частоту виникнення другого ПД (рис. 2(г)). Для отримання даних ВШГ використовувалися ті самі методи, що і для ПГ.

Загалом, ПД у ПГ мають менш стрімке наростання та спадання, та мають більшу ширину на напіввисоті порівняно з нейронами ВШГ. Також, нейрони ПГ є більш чутливими до стимуляції, тобто генерують ПД при меншій силі електричної стимуляції. Нейрони ПГ в гіперглікемічному розчині продемонстрували статистично достовірне зменшення мембранного потенціалу та порогу збудливості. Нейрони верхнього шийного ганглія демонструють відсутність суттєвої зміни своїх електрофізіологічних властивостей під дією гіперглікемії *in vitro*, в той час у нейронах підщелепного ганглія спостерігається тенденція до зменшення частоти генерації ПД.

3. Висновки

Проведено порівняльне дослідження електрофізіологічних властивостей нейронів підщелепного та верхнього шийного гангліїв, як в нормі, так і при штучній гіперглікемії. В даному дослідженні не виявлено суттєвих змін в характеристиках генерованих ними потенціалів дії, але нейрони підщелепного ганглія проявляють тенденцію до зменшення частоти генерації потенціалів дії, а також до зменшення мембранного потенціалу та порогу збудливості.

Для подальшої роботи по дослідженню відмінностей у характеристиках нейронів різних відділів нервової системи пропонується провести дослідження електрофізіологічних властивостей нейронів ПГ та ВШГ, виділених зі щурів, хворих на діабет протягом тривалого часу (від 2-3 місяців і більше), для виявлення довготривалих патологічних змін у них, а також подальше дослідження здатності нейронів ПГ та ВШГ на генерацію послідовних ПД, і впливу діабету на дану характеристику.

Перелік використаних джерел

1. *Amineh Hoseini Ali Mirzapour A. B., Shirzad A.* Salivary flow rate and xerostomia in patients with type I and II diabetes mellitus // *Electron Physician*. — 2017. — Vol. 9, no. 9. — P. 5244–5249. — DOI: [10.19082/5244](https://doi.org/10.19082/5244). — URL: <https://doi.org/10.19082/5244>.
2. *Voyvodic J. T.* Peripheral target regulation of dendritic geometry in the rat superior cervical ganglion // *The Journal of Neuroscience*. — 1989. — Vol. 9, no. 6. — P. 1997–2015. — DOI: [10.1523/JNEUROSCI.09-06-01997.1989](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.09-06-01997.1989). — URL: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.09-06-01997.1989>.
3. *А.О. Настенко О.Е. Пурнинь М. В.* Порухення фізіологічних функцій нейронів верхнього шийного ганглія при цукровому діабеті // *Фізіологічний журнал*. — 2021. — Т. 68, № 1. — С. 74–86. — URL: https://fz.kiev.ua/journals/2019_V.65/2019-3sup/3-supplement_%5C%202019.pdf.
4. *Lichtman J. W.* The reorganization of synaptic connections in the rat submandibular ganglion during post-natal development // *The Journal of Physiology*. — 1977. — Vol. 273, no. 1. — P. 155–177. — DOI: [10.1113/jphysiol.1977.sp012087](https://doi.org/10.1113/jphysiol.1977.sp012087). — URL: <https://doi.org/10.1113/5C%2Fjphysiol.1977.sp012087>.