

УДК 617-001.17:613.381

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ЭЛЕМЕНТОВ ПРОСТОЙ РЕФЛЕКТОРНОЙ ДУГИ ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПОКИНЕЗИИ

Попель С. Л.

Прикарпатский национальный университет им. В. Стефаника, Ивано-Франковск, Украина

С помощью гистологического, электронно-микроскопического и морфометрического анализа показано, что деструктивные изменения в элементах простой рефлекторной дуги при долговременной гипокинезии имеют гетерогенный характер и касаются как сегментарной системы, так и проводникового аппарата. Нарушение кровообращения вызывает разобщение обмена веществ в системе гемокapилляр-нейроцит и тем самым вызывает гипоксию и развитие деструктивных изменений в составных компонентах простой рефлекторной дуги. После физической нагрузки предупреждаются патогенные факторы гипокинетической болезни и создаются необходимые условия для активации внутриклеточных регенераторных процессов, что способствует относительной нормализации структуры нейроцитов спинного мозга за счёт расширения просвета микрогемососудов, лучшей сохранности внутриклеточных компонентов, активации регенераторных процессов. Обсуждаются возможные механизмы морфологической перестройки элементов простой рефлекторной дуги после длительной гипокинезии и последующей физической нагрузки.

Ключевые слова: гипокинезия, нейроцит, нервные волокна, кровеносные сосуды.

Введение. Трудности исследования влияния долговременной гипокинезии (ДГК) на организм человека связаны с рядом объективных и субъективных причин [9, 10], определяющих нарушение основного методологического принципа, согласно которому функциональная система локомоторной организации организма должна рассматриваться как целостная система взаимосвязей ее составных компонентов [2]. В первую очередь это касается оценки таких взаимосвязей между центральным и периферическим звеном простой рефлекторной дуги (ПРД). Функциональная целостность этих отделов ПРД подтверждается результатами исследования патологии мышц при ДГК, где большинство авторов [2, 6] указывают на выраженные изменения периферического нервного аппарата [7]. Однако в работах, посвященных влиянию ДГК на организм разных животных и человека [1, 2, 7], уделяется недостаточно мало внимания исследованию постгипокинетических реакций нервных проводников, спинномозговых ганглиев и спинальных мотонейронов. Еще меньше исследований проведено по проблеме оценки влияния физической нагрузки (ФН) разной интенсивности на эти компоненты после ДГК [3, 4, 5, 8].

Цель работы – изучить изменения проводникового и сегментарного компонентов простой рефлекторной дуги при физической нагрузке после долговременной гипокинезии.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на 250 лабораторных крысах. Гипокинезию моделировали путем содержания животных в клетках-пеналах на протяжении 240 суток согласно «Правилам обращения с экспериментальными животными». Физическую нагрузку проводили бегом в тредмиле по 5 мин. три раза в сутки (общая нагрузка 150 м/сут) на протяжении 15 и 30 суток. Для гистологического исследования забирали ткани серого вещества спинного мозга и седалищного нерва (СН) в средней части бедра, фиксировали в 12% нейтральном формалине и заливали в парафин. Для электронно-микроскопического исследования материал фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, постфиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия на фосфатном буфере рН 7,2-7,4, обезвоживали в спиртах и ацетоне, после чего заливали в смесь эпоксидных смол. Гистологические срезы красили толуидиновым синим по методу Ниссля,

Кульчицкого, Масон и Ван-Гизон. Для светлооптического исследования использовали систему анализа Vision CCD Camera и программу Inter Video Win DVR. Ультратонкие срезы контрастировали за Рейнольдсом и изучали в электронном микроскопе ПЕМ-125К. Полученные результаты исследования обрабатывали методами вариационной статистики с учетом индивидуальной и групповой изменчивости.

Результаты исследования и их обсуждение. Адекватность модели ГК подтверждали обнаруженные изменения на проводниковом и сегментарном уровне организации ПРД. Так, при световой микроскопии в передних рогах спинного мозга (СМ) наблюдается разнообразный спектр поражений нейроцитов – от первичного раздражения до тяжелых патоморфологических изменений клеток. Чаще всего обнаруживаются гиперхромные нейроциты с большим количеством вещества Ниссля в виде мелкозернистой, почти пылевидного вида, со светлым эксцентрично расположенным ядром. В кариоплазме часто определяется плотное ядрышко. Морфометрическое исследование указывает на уменьшение размеров тела нейроцитов (рис. 1). Их цитоплазма слабо воспринимает красители, поэтому они выглядели набухшими, а контуры – трудно определяемыми. На периферии цитоплазма нередко имеет светлый ободок.

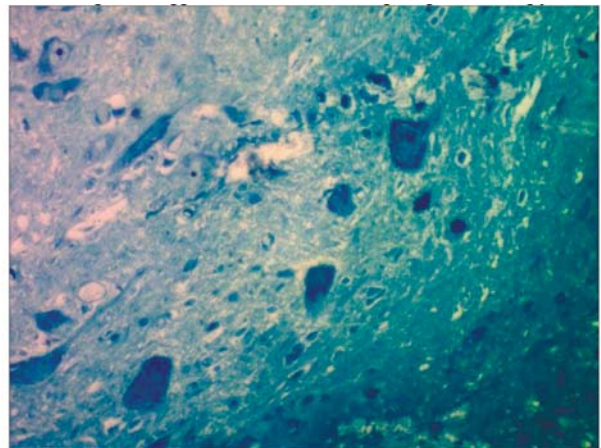


Рисунок 1 – Нейроциты передних рогов спинного мозга после длительной гипокинезии. Уменьшение количества и размеров нейроцитов, потеря большинства отростков. Окраска по методу Ниссля. Ув.: ок.х7, об.х90

При электронно-микроскопическом исследовании в гиперхромных нейронах наблюдается нетипичное распределение хроматина в кариоплазме. Субклеточные элементы имеют гетерогенное строение, что определяется резким сжатием канальцев гранулярной эндоплазматической сети с потерей фиксированных и свободных рибосом.

В цитоплазме нейроцитов в большом количестве встречаются липофусциновые включения и лизосомы. В одном и том же комплексе Гольджи цистерны могут быть одновременно и набухшими, и фрагментированными, и редуцированными. Митохондрии также имели различные модификации: от повышения плотности матрикса и неразличимости крист в одних и, напротив, в виде вакуолизации матрикса, фрагментации и потери крист – в других.

Такие морфологические превращения неспецифические, встречаются при многих физиологических и патологических процессах и свидетельствуют об реактивных изменениях клеточного метаболизма [7, 9].

Наряду с гиперхромными встречаются, хотя и в значительно меньшем количестве, нормохромные нейроны. В их цитоплазме определялись признаки морфофункционального напряжения в виде вакуолизации канальцев ЭПС, незначительного набухания митохондрий и большого количества первичных и вторичных лизосом. Ещё реже встречались гипохромные нейроны с обедненной органоидами цитоплазмой и типичной для нормальных нейроцитов структурой кариоплазмы.

Олигодендрциты в СМ при ТМ имели полиморфные изменения карио- и цитоплазмы, их можно было разделить на три типа: с почти типичной структурой, гипер- и гипохромные. Нормохромные олигодендрциты имели признаки морфофункционального напряжения и такие же умеренные нарушения структуры органоидов, как и нейроны.

В миелиновых волокнах сегментарных центров СМ выявлялось расслоение, искривление и слипание между собой отдельных ламелл миелина с повышением или снижением плотности миелиновой оболочки (миелинопатия). Площадь поперечного сечения аксонов уменьшается, вследствие чего между ними и миелиновой оболочкой появлялись разного размера бесформенные пространства, иногда значительного размера (рис. 2).

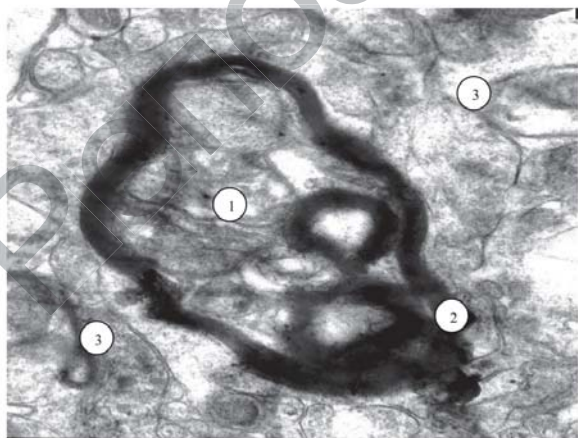


Рисунок 2 – Миелиновое нервное волокно сегментарного центра L5 спинного мозга крысы после длительной гипокинезии: 1 – аксоплазма; 2 – миелин, 3 – отростки глиоцитов. Ув.: x8000

В структуре астроцитов при ДГК наиболее отчетливо изменялась кариоплазма, которая была нетипично гомогенной и более плотной, чем в контроле. Цитоплазма клеток, напротив, либо не отличалась по своей структуре от таковой в контроле, либо была существенно обеднена органоидами. В значительной степени нарушалась структура аксо-дендритических и аксо-соматических синапсов.

При электронно-микроскопическом исследовании сегментарных спинномозговых ганглиев (СМГ) были обнаружены отчетливые и разнообразные нарушения ультраструктуры нейроцитов и нейроглиоцитов, нервных волокон и синаптических контактов. При этом морфологические элементы микроциркуляторного русла почти не имели нарушений, лишь в ряде случаев в капиллярах отмечались эритроцитарные сладжи.

Среди нейроцитов встречались как дистрофически измененные по темному типу, так и дистрофически измененные по светлому типу клетки с очень светлой цитоплазмой. В гиперхромных нейронах такие органоиды, как канальцы гранулярной ЭПС и цистерны комплекса Гольджи, располагались плотно, встречались лизосомы и липофусциновые включения (рис. 3).

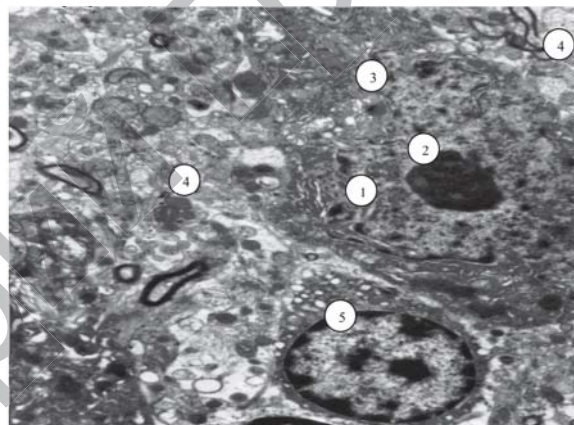


Рисунок 3 – Гиперхромный нейрон спинномозгового ганглия крысы при ДГК: 1 – ядро, 2 – ядрышко, 3 – розетки из плотно упакованных канальцев гранулярной эндоплазматической сети, 4 – нейрофиль, 5 – нейроглиоцит. Ув.: x8000

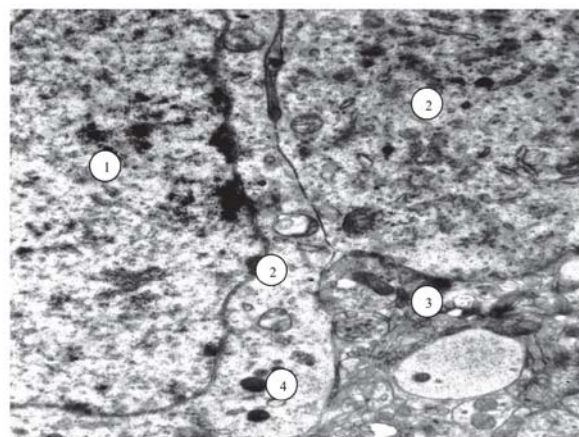


Рисунок 4 – Участок цитоплазмы нейроцитов спинномозгового ганглия крысы после ДГК с дистрофией цитоплазмы по “светлому” типу: 1 – ядро, 2 – нейроплазма, 3 – нейрофиль, 4 – лизосомы. Ув.: x15000

В светлых нейронах цитоплазма почти не содержала органоидов, а сохранившиеся (митохондрии, каналцы ЭПС и цистерны комплекса Гольджи) часто были вакуолизированы (рис. 4).

Обнаруживались единичные погибающие нейроны с нетипично плотной структурой ядра и ядрышка с блеббингом цитоплазмы вследствие вакуолизации всех основных органоидов: ЭПС, комплекса Гольджи и митохондрий (рис. 5).

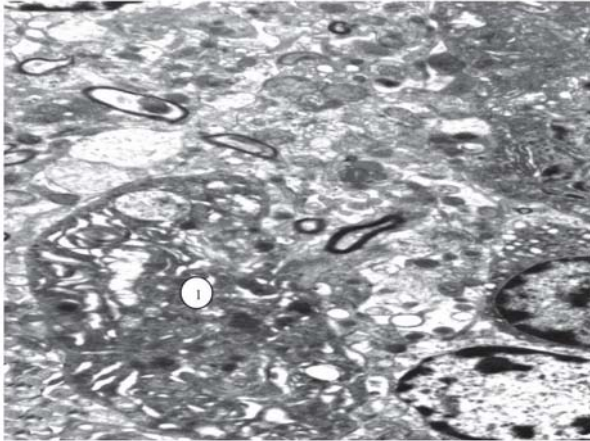


Рисунок 5 – Погибающий нейрон (1) с выраженной вакуолизацией (блеббингом) основных органоидов цитоплазмы. Спинномозговой ганглий крысы при ДГК. Ув.: x6000

Часть леммоцитов (миелинообразующих глиоцитов) имели типичную структуру ядра и почти не измененную цитоплазму. В большинстве же это были клетки с гиперхромной или просветленной цитоплазмой, т.е. леммоциты, как и нейроны, имели морфологические признаки дистрофии по “темному” либо “светлому” типу (рис. 6).

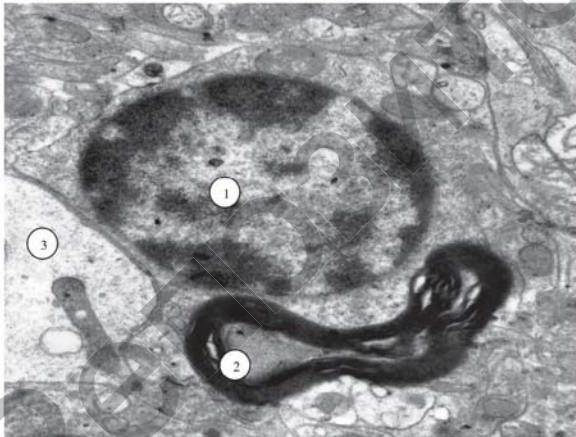


Рисунок 6 – Гиперхромный леммоцит спинномозгового ганглия крысы при ДГК: 1 – ядро; 2 – миелиновое волокно; 3 – гипохромный нейрон. Ув.: x12000

Миелиновые волокна седалищного нерва (СН) характеризовались такими изменениями, как слипание ламелл с потерей четкости рисунка и повышением осмиофильности миелиновой оболочки (см. рис. 6) либо расщеплением миелина на ламеллы неодинаковой толщины и их своеобразным переплетением, придающим миелину вид сеточки, особенно в крупных волокнах (рис. 7). Аксоны изменялись в значительно меньшей степени и гораздо реже, чем миелин (см. рис. 6, 7).

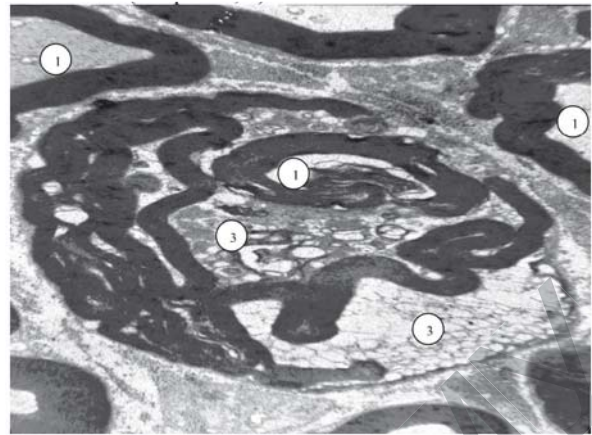


Рисунок 7 – Крупное миелиновое нервное волокно с выраженной миелинопатией и умеренной аксонопатией из седалищного нерва крысы после ДГК: 1 – аксон, 2 – миелин, 3 – цитоплазма нейролеммоцита. Ув.: x6800

Отчетливо выраженными были нарушения синаптических контактов, которые часто не имели типично оформленной пресинаптической и постсинаптической зоны. Контактующие волокна были обеднены синаптическими пузырьками, а митохондрии в них теряли четкость крист и матрикса (рис. 8).

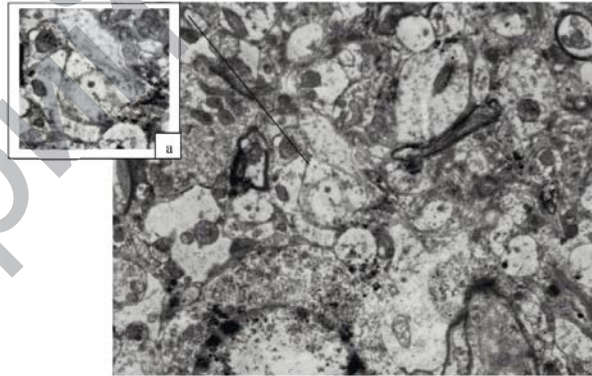


Рисунок 8 – Синаптический «буто́н» (а) из трех дендритов с плохо очерченной контактной зоной и почти полным отсутствием синаптических пузырьков. Спинномозговой ганглий крысы после ДГК. Ув.: x12000

Таким образом, установлено, что ДГК сопровождается структурно-функциональными изменениями образований простой рефлекторной дуги. Исследование динамики изучаемых показателей позволяет предположить развитие в ранние сроки ДГК изменений нейроцитов спинномозговых ганглиев по механизмам парабиоза. В дальнейшем часть из них восстанавливают свою структуру и функцию, в остальных наблюдается развитие гипер- или гипохромной деструкции с миелинопатией дендритов. Наличие периферической деафферентации усиливает степень двигательных расстройств.

Морфологическая перестройка отдельных компонентов ПРД при физической нагрузке средней аэробной мощности (ФНСАМ) происходит на фоне предварительных изменений после ДГК и свидетельствует о её протекторной роли, что проявляется морфометрической перекалибровкой клеточного и проводникового состава.

Прежде всего обращает на себя внимание

уменьшение количества нейроцитов СМ и СМГ, подверженных гипер- и гипохромной дистрофии. В цитоплазме тех из них, которые вовлекаются в реактивные процессы, наблюдаются гораздо меньшие изменения в сравнении с таковыми без ФНСАМ.

У животных после ДГК уже через 15 сеансов ФНСАМ улучшается васкуляризация серого вещества спинного мозга: увеличивается количество сосудов большого и среднего диаметра. При этом уменьшаются явления тигролиза в нейронах, который имеет преимущественно периферический или сегментарный характер. На ультраструктурном уровне наблюдается лучшая сохраняемость мембран гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гольджи. Наблюдается менее выраженное расширение их канальцев и цистерн, фрагментация и вакуолизация, а также деструкция крист и просветление матрикса митохондрий.

Наблюдается значительная активация ядерных структур: гипертрофия, дубликация и эктопия ядрышка, большое количество гранулярного материала рибосомального типа в кариоплазме, и особенно вблизи ядрышка (рис. 9).

В кариоллеме увеличивается количество ядерных пор, рибосом и полисом, особенно парануклеарно возле ядерной оболочки и в участке ее инвагинаций, которые увеличивают площадь взаимодействия ядра и цитоплазмы. В эти сроки в нейроплазме части нейроцитов двигательных ядер спинного мозга наблюдается рост плотности органелл, гипертрофия диктиосом комплекса Гольджи и митохондрий, большое количество полисом. Часть митохондрий становились удлинёнными, разветвлёнными, содержали много крист, часто располагались вблизи ядерной оболочки и цистерн гранулярной эндоплазматической сетки (рис. 10).

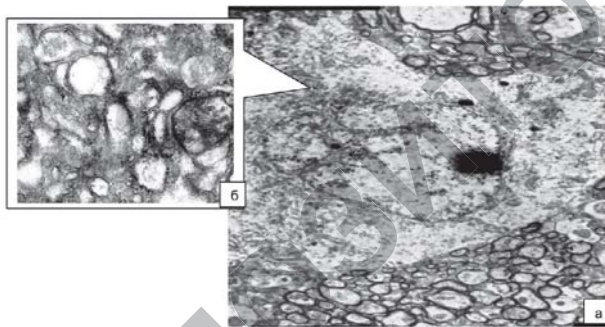


Рисунок 9 – Ультраструктура нейрона спинного мозга крысы через 240 суток гипокинезии (а). Деструктивные изменения органелл в нейроплазме, фрагментация, вакуолизация канальцев гранулярной эндоплазматической сети и цистерн комплекса Гольджи, уменьшение количества рибосом и полисом, просветление матрикса и деструкция крист митохондрий (б). Зб.:ах8000, бх17000

После 30-кратного воздействия ФНСАМ в нейронах передних рогов спинного мозга хорошо выражено базофильное вещество. Гипо- и гиперхромные нейроны выявляются редко.

Субмикроскопически во многих нейронах цистерны гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гольджи приобретают свойственную им струк-

турную организацию, нормализуется структура и количество рибосом и полисом, активными выглядят компоненты ядра. Кариоплазма умеренной электронной плотности, в ней выявляются ядрышки разной формы и разного размера, много рибосомальных гранул. Это свидетельствует об улучшении пластического обеспечения функций нейроцитов [9, 10, 11].

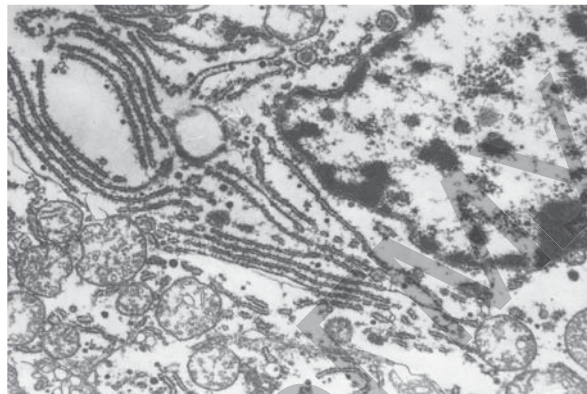


Рисунок 10 – Субмикроскопическая организация нейрона спинного мозга крысы через 15 сеансов физической нагрузки средней аэробной мощности на фоне предыдущей гипокинезии. Гипертрофия ядрышка, много рибосом в нейроплазме, возобновление структуры органелл. Зб.:х10000

Во все сроки опыта в условиях применения ФНСАМ отмечается умеренное увеличение количества лизосом и небольшое количество аутофагосом по сравнению с группой животных автономного восстановления после ДГК. Это указывает на меньшую степень повреждения мембранных компонентов нейроцитов, снижение интенсивности катаболических реакций, характерных для пост-гипокинетических изменений.

Таким образом, при ФНСАМ предупреждаются патогенные факторы гипокинетической болезни и создаются необходимые условия для активации внутриклеточных регенераторных процессов. Это способствует относительной нормализации структуры многих нейроцитов спинного мозга после долговременной гипокинезии.

Выводы. Полученные результаты гисто-ультраструктурных исследований свидетельствуют о том, что раннее назначение физической нагрузки средней аэробной мощности вызывает расширение просвета микрогемососудов и способствует уменьшению деструктивных изменений в нейронах спинного мозга после долговременной гипокинезии. Лучшая сохранность внутриклеточных компонентов обеспечивает активацию регенераторных процессов, которые являются основой для нормализации структуры нервных клеток.

Перспективы последующих разработок. Полученные данные экспериментального гисто-ультраструктурного исследования в дальнейшем могут быть использованы для применения разных режимов физической нагрузки в комплексном лечении гипокинетической болезни, а также позволят проводить последующие морфофункциональные исследования на супрасегментарном уровне организации организма.

Литература

1. Багаутдинов, И.Р. Морфология двигательных ядер спинного мозга при хронической гипокинезии / И.Р. Багаутдинов, Ю.Г. Васильев // *Фундаментальные исследования*. – 2005. – № 5 – С. 104–104.
2. Гипокинезия и гиперкинезия как факторы риска в экстремальных условиях / Т.М. Нарымбетова, К.С. Орманбаев, Б.У. Байзакова [и др.] // *Успехи современного естествознания*. – 2011. – № 5 – С. 64 – 66.
3. Меерсон, Ф.З. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшенникова. – М.: Медицина, 1988. – С. 30 – 51.
4. Пожарова, Г.В. Особенности адаптации системы гемостаза к физическим нагрузкам разной интенсивности / Г.В. Пожарова, М.А. Гераскина // *Фундаментальные исследования*. – 2005. – № 5 – С. 85 – 86.
5. Сахаров, Д.А. Анализ основных изоформ гормона роста человека до и после интенсивных физических нагрузок / Д.А. Сахаров, М. Тевис, А.Г. Тоневицкий // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2008 – Т. 146, № 10. – С. 446 – 450.
6. Свободный тестостерон как маркер адаптации к нагрузкам средней интенсивности / М.Ю. Шкурников, Д.А. Сахаров, Е.Б. Акимов [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2008 – Т.146, № 9. – С. 330 – 332.
7. Смирнов, А.В. Изменение структуры периферических отделов нервной и эндокринной систем растущего организма под влиянием гиподинамии и гипокинезии / А.В. Смирнов, Д.А. Чернов, Н.Ю. Иванаскене // *Морфология*. – СПб., 2000. – Т. 117, № 3. – С. 112–115.
8. Шевцов, В.И. Регенерация и рост тканей в условиях воздействия на них дозированных направленных механических нагрузок / В.И. Шевцов // *Вестник РАМН*. – 2000. – № 2. – С. 19 – 23.
9. Abelson J. Is the spliceosome a ribonucleoprotein enzyme? / J. Abelson // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 15. – № 12. – P. 1235 – 1237.
10. Brow D.A. Allosteric cascade of spliceosome activation / D.A. Brow // *Annu Rev Genet.* – 2002. – Vol. 36. – P. 333 – 360.
11. Blencowe B.J. Alternative splicing: new insights from global analyses / B.J. Blencowe // *Cell*. – 2006. – Vol. 126, № 1. – P. 37 – 47.

Literatura

1. Bagautdinov I.R. Morfologia dvigatelnych yader spinnogo mozga pri chronicheskoy hipokinezii / I.R. Bagautdinov, Yu.G. Vasil'yev // *Fundamentalnii issledovanya*. – 2005. – № 5. – S. 104–104.
2. Hypokineziya i giperkinеziya kak faktori riska v ekstremalnih usloviach / T.M. Narimbetova, K.S. Ormaybaev, B.U. Bayzakova [i dr.] // *Uspechi sovremennogo estestvoznaniya*. – 2011. – № 5. – S. 64–66.
3. Meerson F.Z. Adaptacia k stressovim situaziam I fizicheskim nagruzkam / F.Z. Meerson, M.G. Pshennichnikova. – M.: Medicina, 1988. – S. 30–51.
4. Pozharova G.V. Osbennosti adaptacii sistemi uemostaza k fizicheskim nagruzkam paznoy intensivnosti / G.V. Pozharova, M.A. Geraskina // *Fundamentalnii issledovanya*. – 2005. – № 5. – S. 85–86.
5. Sacharov D.A. Analiz osnovnich izoform gormona rosta cheloveka do I posle intensivnich fizicheskich nagruzkov / D.A. Sacharov, M. Tevis, A.G. Tonevicky // *Byuleten' eksperimental'noy biologii i medicine*. – 2008. – T. 146, № 10. – S. 446–450.
6. Svobodniy testosterone kak marker adaptacii k nagruzkam sredney intensivnosti / M.Yu. Shkurnikov, D.A. Sacharov, E.B. Akimov [i dr.] // *Byuleten' eksperimental'noy biologii i medicine*. – 2008. – T. 146, № 9. – S. 330–332.
7. Smirnov A.V. Izmeneniya struktury perifericheskich otdelov nervnoy I endokrinnoy system rastuschego organizma pod vliyaniem gipodinamii I gipokinesii / A.V. Smirnov, D.A. Chernov, N.Yu. Avanauskene // *Morfologiya*. – SPT, 2000. – T. 117, № 3. – S. 112–115.
8. Chevcev V.I. Regeneraciya I rost tkaney v usloviyach vozdeystviya na nich dozirovanich napravlenich mechanicheskich nagruzkov / V.I. Chevcev // *Vestnik RAMN*. – 2000. – № 2. – S. 19–23.
9. Abelson J. Is the spliceosome a ribonucleoprotein enzyme? / J. Abelson // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 15. – № 12. – P. 1235 – 1237.
10. Brow D.A. Allosteric cascade of spliceosome activation / D.A. Brow // *Annu Rev Genet.* – 2002. – Vol. 36. – P. 333 – 360.
11. Blencowe B.J. Alternative splicing: new insights from global analyses / B.J. Blencowe // *Cell*. – 2006. – Vol. 126, № 1. – P. 37 – 47.

FEATURES OF REACTION OF ELEMENTS OF SIMPLE REFLEX ARC IN PHYSICAL EXERTION AFTER PROLONGED HYPOKINESIA

Popel S.L.

V. Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

By means of histological, electronic-microscopic and morphometric analysis it has been shown that the destructive changes in the elements of simple reflex arc in prolonged hypokinesia are heterogeneous in nature and involve both the segmentary system and conduction apparatus. Abnormal blood circulation causes disturbance of metabolism in the system hemocapillary-neurocyte, and thus hypokinesia and destructive changes in the components of simple reflex arc are induced. After physical exertion pathogenic factors of hypokinetic disease are prevented and the necessary conditions for activation of intracellular regenerative processes are created, this contributes to relative normalization of the structure of neurocytes of the spinal cord due to the increase in the lumen of small blood vessels, better preservation of intracellular components and the activation of regenerative processes. Possible mechanisms of morphological alteration of elements of simple reflex arc after prolonged hypokinesia and subsequent physical exertion are discussed.

Key words: hypokinesia, neurocyte, nerve fibers, blood vessels.

Адрес для корреспонденции: e-mail: serg_popel@mail.ru

Поступила 28.08.2014