

УДК [611.73 + 611.018.861]:616-009.17

С.А. Попель

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, м. Івано-Франківськ

## МОРФОЛОГІЯ НЕЙРОЦИТІВ РУХОВОГО І ЧУТЛИВОГО СЕГМЕНТАРНИХ ЦЕНТРІВ СПИННОГО МОЗКУ ПІСЛЯ ДОВГОТРИВАЛОЇ ГІПОКІНЕЗІЇ І ФІЗИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Визначені особливості гісто-ультраструктурної перебудови нейронів рухового і чутливого сегментарних центрів спинного мозку під впливом 15- і 30 кратного фізичного навантаження середньої аеробної потужності після 240 добової гіпокінезії. Досліди проведені на 252 статевозрілих лабораторних щурах-самцях лінії Вістар. Гістологічні зрізи фарбували толуїдиновим синім по методу Ніссля, електронномікроскопічні – контрастували цитратом свинцю за Рейнольдс.

Встановлено, що при довготривалій гіпокінезії спостерігаються деструктивні зміни нейронів рухового і чутливого сегментарних центрів спинного мозку та оточуючих мікрогемосудин. Доведений позитивний вплив застосування багатократного фізичного навантаження середньої аеробної потужності на перебіг регенераторних процесів і нормалізацію структури нейронів та мікрогемосудин в різних компонентах простої рефлекторної дуги в динаміці експерименту.

**Ключові слова:** спинний мозок, гістологічні зміни, ультраструктура, тривала гіпокінезія, фізичне навантаження.

В багатьох дослідженнях встановлено, що фізичне навантаження різного рівня інтенсивності приводять до запуску великої кількості біохімічних, молекулярних і генетичних механізмів, що лежать в основі адаптаційних реакцій організму на різні стресові чинники [3,4,5,6]. Процеси адаптації організму до фізичних навантажень середньої аеробної потужності (ФНСАП) привертають все більше уваги дослідників [6,7,8], оскільки вони пов'язані як з появою ізоформ ростових чинників, так і з активацією системи генів ранньої відповіді (ГРВ). В результаті транскрипції і роботи каскаду сигнальних ГРВ відбувається активація генів протеїнового неосинтеза, що є основою для формування структурного сліду адаптації як специфічної відповіді організму на стрес. Початковими активаторами ГРВ є різні стресові чинники, зокрема, іммобілізаційний стрес або гіпокінезія (ГК), які можуть впливати на експресію ГРВ як прямо, так і опосередковано через нейрон-гуморальну систему [9,10,11]. При цьому нейрони виконують важливу роль в процесі відновлення організму після ГК, тому знання про їх структурну перебудову являють досить важливий аспект проблеми адаптації, про що свідчать значна кількість наукових робіт [1,2,7]. Проте відомості про морфологічні зміни рухових і чутливих нейронів спинного мозку (СМ) в умовах фізичного навантаження середньої аеробної потужності після тривалої ГК фрагментарні [1,2] і вимагають уточнення.

**Метою** роботи було вивчити морфологічні зміни нейронів чутливого і рухового сегментарних центрів спинного мозку при фізичному навантаженні середньої аеробної потужності після довготривалої гіпокінезії.

**Матеріал та методи дослідження.** Матеріалом дослідження були рухові і чутливі центри сегментів L<sub>2</sub>-S<sub>2</sub> спинного мозку 252 лабораторних щурів-самців. Для встановлення динаміки гісто-ультраструктурних змін в структурних компонентах СМ піддослідних тварин декапітували на 30, 120 та 240 добу з дотриманням нормативно-правових положень (контрольна група – 30 тварин). В експериментальній групі після 240 добової гіпокінезії тварини піддавались фізичному навантаженню (біг в тредмілі) протягом 30 днів згідно з методикою представленою в таблиці 1.

Таблиця 1

### Структура тренувального циклу тварин експериментальної групи після довготривалої гіпокінезії (n=232)

Дні тренування	Швидкість бігу в м/хв	Режим тренування в хв	Величина інтервалу відпочинку в хв	Кут нахилу бігової доріжки в градусах	Сумарний об'єм фізичних навантажень в м
1-3	15	2 x 5	2	0	150
4-6	20	2 x 5	2	0	200
7-9	20	3 x 5	2	+5	300
10-12	20	4 x 5	2	+5	400
13-15	20	5 x 5	2	+5	500
16-18	25	5 x 5	2	+5	625
19-21	25	5 x 6	3	+5	750
22-24	25	5 x 7	3	+7	875
25-27	30	5 x 6	3	+7	900
28-30	35	5 x 6	3	+7	900

Тварин експериментальної групи виводили з експерименту на 15 і 30 добу. Для гістологічних досліджень забирали спинномозкові вузли і маленькі шматочки тканини сірої речовини спинного мозку, фіксували в 10,0% нейтральному формаліні, зневоднювали у спирті та заливали у парафін, для ультраструктурних – у 2,5-3% розчині глютаральдегіду, постфіксували в 1% розчині тетраоксиду осмію на фосфатному буфері рН 7,2-7,4, зневоднювали в спиртах і ацетоні з поетапним збільшенням концентрації розчинів та заливали в суміш епоксидних смол. Гістологічні зрізи фарбували толуїдиновим синім за методом Ніссля. Для світлооптичного дослідження

застосовували систему аналізу Vision CCD Camera і програму InterVideoWinDVR. Ультратонкі зрізи контрастували за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Проведені мікроскопічні дослідження показали, що через 30 діб від початку моделювання ГК у щурів контрольної групи на фоні судинних розладів (звуження просвіту геміомікросудин, периваскулярний набряк) в ядрах передніх рогів спинного мозку переважають гіпохромні нейрони з пониженим вмістом базофільної речовини і набряклими відростками. В таких “світлих” клітинах, що знаходились в стані тигролізу, виявляються круглі з просвітленою каріоплазмою ядра з невеликими ектопованими ядерецями. Субмікроскопічно спостерігались розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) і комплексу Гольджі (КГ). Відмічається значне зменшення вмісту рибосом і полісом, знижена електронна щільність нейроплазми. Набухання, просвітлення матриксу мітохондрій супроводжується деструкцією їх крист. Підвищується кількість первинних і вторинних лізосом. Поступово на 120 і особливо 240 добу досліду наростала кількість гіперхромних, подовжено-звужених і зморщених “темних” нейронів, в яких, була підвищена осміофільність каріо- і цитоплазми. Спостерігаються різної величини інвагінації ядер, каріопікноз, а іноді каріорексис, збільшення перинуклеарних просторів, нерівномірне розширення і фрагментація каналців ГЕС і цистерн КГ та руйнування мембран і крист багатьох мітохондрій. В нейроплазмі підвищувався вміст аутофагосом, включення ліпофусцину розміщувались поблизу вторинних лізосом і деструктивно змінених органел.

Результати проведеного морфометричного аналізу вказують, що при гіпокінезії відбувається порушення характеру розподілу тіл нейронів в спинномозкових вузлах, а також зменшення площі профілю ядер і перикаріонів. Площа профілю перикаріонів чутливих нейронів зменшується на 35,3%, площа профілю ядер – на 33,8% ( $p < 0,05$ ). В дрібних нейроцитах дезорганізація ядерцевого апарату проявляється незначною деформацією, розширенням лакун та порушеннями співвідношення фібрилярного і гранулярного компонентів. При цьому частина клітин великого діаметру мають звичайну будову або характеризуються атрофією гранулярної ендоплазматичної сітки, розширенням цистерн і пухирців комплексу Гольджі, дезорганізацією мітохондрій нейротрубочок і нейрофіламентів. У мантійних гліоцитах виявляються однотипні зміни з деструкцією мітохондрій, розширенням і вакуольною трансформацією цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки. Отримані дані співзвучні з результатами досліджень інших авторів, які вивчали вплив гіпокінезії на структурну перебудову різних частин простої рефлекторної дуги в експерименті [1,7].

Зміни в гемокапілярах різних відділів простої рефлекторної дуги полягають у підвищенні рухомості люменальної поверхні плазмолем, зростанні процесів трансендотеліального транспорту, деструкції мітохондрій, гранулярної ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі. Порушення проникливості стінки гемокапілярів може сприяти накопиченню недоокислених продуктів метаболізму в стромі спинного мозку і спинномозкових вузлів, гліальних клітинах та тілах нейроцитів.

Таким чином після довготривалої гіпокінезії причиною поразки сегментарних центрів простої рефлекторної дуги є порушення ультраструктурної організації ендотеліоцитів гемокапілярів спинного мозку і спинномозкових вузлів. З цим ми пов'язуємо зростання кількості “світлих” нейроцитів з глибокими дистрофічними змінами. У цитоплазмі “темних” перикаріонів визначаються явища хроматолізу, пошкодження мітохондрій, помірні зміни цитоскелету. Подібний характер змін спостерігали А.В. Смирнов і співав., (2000) та Т.М. Наримбетов і співав., (2005) в експериментах з вивченням впливу на перикаріони сенсорних нейронів різних рухових режимів. При цьому нам не вдалося спостерігати загибелі перикаріонів чутливих нейронів та проявів запальної реакції в стромі спинномозкових вузлів, виявлених у попередніх дослідженнях В.И. Шевцова (2000).

У тварин після довготривалої ГК, вже через 15 сеансів ФНСАП покращувалась васкуляризація спинномозкових вузлів і сірої речовини СМ. Тигроліз в нейронах був менше виражений, носив периферійний або сегментарний характер. Електронномікроскопічно спостерігалась краща збереженість мембран ГЕС і КГ, було менш виражене розширення їх каналців і цистерн, фрагментація і вакуолізація, а також деструкція крист і просвітлення матриксу мітохондрій. Спостерігалася значна активація ядерних структур: гіпертрофія, дублікація і ектопія ядерець, велика кількість гранулярного матеріалу рибосомального типу в каріоплазмі і особливо поблизу ядерець. В каріолемі збільшувалась кількість ядерних пор, рибосом і полісом, особливо парануклеарно біля ядерної оболонки та в ділянці її інвагінацій, які збільшували площу взаємодії ядра і цитоплазми. В ці терміни в нейроплазмі частини нейроцитів спинного мозку спостерігалось зростання щільності органел, гіпертрофія диктіосом КГ і мітохондрій, велика кількість полісом. Частина мітохондрій ставали подовженими, розгалуженими, містили багато крист, часто розташовувались поблизу ядерної оболонки і цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки. Після 30 кратного впливу ФНСАП в нейроцитах передніх рогів спинного мозку добре виражена базофільна речовина. Гіпохромні і гіперхромні нейроцити виявляються рідко. Субмікроскопічно у багатьох нейронах ГЕС і КГ набувають властивої для них структурної організації, нормалізується вміст рибосом і полісом, активуються компоненти ядра. Каріоплазма помірної електронної щільності, в ній виявляються ядерець різної форми і розмірів, багато рибосомальних гранул. Це свідчить про покращення пластичного забезпечення функцій нейронів. В усі терміни досліду в умовах застосування ФНСАП спостерігається помірне збільшення кількості лізосом і невелика кількість аутофагосом в порівнянні з контрольною групою. Це вказує на менше пошкодження мембранних компонентів нейронів, зниження інтенсивності катаболічних реакцій, характерних для постгіпокінетичних змін.

Таким чином, при застосуванні ФНСАП попереджуються патогенні фактори гіпокінетичної хвороби і створюються необхідні умови для активації внутрішньоклітинних регенераторних процесів. Це сприяє відносній нормалізації структури багатьох нейроцитів спинного мозку і спинномозкових вузлів після довготривалої ГК.

### Висновок

Отримані результати гістологічних та електронномікроскопічних досліджень свідчать, що раннє призначення фізичного навантаження середньої аеробної потужності сприяє розширенню просвіту мікрогемосудин та сприяє зменшенню деструктивних змін у нейронах спинного мозку. Збереження внутрішньоклітинних компонентів забезпечує активацію регенераторних процесів, нормалізацію нервових клітин після фізичного навантаження середньої аеробної потужності і впливає на покращення кровопостачання складових компонентів спинного мозку.

*Перспективи подальших розробок.* Отримані наукові експериментальні дані гісто-ультраструктурних досліджень в подальшому можуть бути використані для застосування різних режимів ФН в комплексному лікуванні гіпокінетичної хвороби, а також дозволять проводити подальші морфофункціональні дослідження.

### Література

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. Пшеничникова. – 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. Тоневский // *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. Иванаускаене // *Морфология*. – СПб., 2000. – Т. 117. – № 3. – С. 112.
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.

### Реферати

#### МОРФОЛОГИЯ НЕЙРОНОВ ДВИГАТЕЛЬНОГО И ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО СЕГМЕНТАРНЫХ ЦЕНТРОВ СПИННОГО МОЗГА ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПОКИНЕЗИИ И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

Попель С.Л.

Определены особенности гисто-ультраструктурной перестройки нейронов двигательного и чувствительного сегментарных центров спинного мозга под воздействием 15- и 30 кратной физической нагрузки средней аеробной мощности после 240 суточной гипокинезии. Опыт проведен на 252 половозрелых лабораторных крысах-самцах линии Вистар. Гистологические срезы окрашивали толуидиновым синим по методу Ниссля, электронномикроскопические – контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу.

Установлено, что при долговременной гипокинезии наблюдаются деструктивные изменения нейронов двигательного и чувствительного сегментарных центров спинного мозга и окружающих микрогемосудин. Указывается на положительное влияние применения многократной физической нагрузки средней аеробной мощности на протекание регенераторных процессов и нормализацию структуры нейронов и микрогемосудин в разных компонентах простой рефлекторной дуги в динамике эксперимента.

**Ключевые слова:** спинной мозг, гистологические изменения, ультраструктура, длительная гипокинезия, физическая нагрузка.

Статья надійшла 8.05.2013 р.

#### MORPHOLOGY OF NEURONS OF MOTIVE AND SENSIBLE SEGMENTARY CENTERS SPINAL CORD AFTER LONG THERMS HYPOKINEZIA AND PHYSICAL LOADING

Popel S.L.

The objective of research was establishment of the histo-ultrastructure alteration of neurons of motive and sensible segmentary centers of spinal cord under act of a 15- and 30 multiple physical load medial aerobic power after 240 day's hypokinezia. Experiments have been made on 252 rats of line Wistar with a long therms hypokinezia and animals which were covered by physical load medial aerobic power. Histological specimens were stained with toluidin blue by Nissl's method, electronmicroscopic slices were fixed with glutaraldehyd, post-fixed with tetraoxyd osmium and contrasted plumbum citrate by Reynolds'.

It is set that at of long duration hypokinezia there are the destructive changes of neurons of motive and sensible segmentary centers of spinal cord and surrounding micro blood vessels. There also has been revealed positive influence of application of the frequent physical load medial aerobic power on motion of regenerator processes and normalization of structure of neurons and blood vessels in different components of simple reflex arc in the dynamics of experiment.

**Key words:** spinal cord, histological changes, ultrastructure, long therms hypokinezia, physical load.

Рецензент Шепітько В.І.