

С.А. Попель

Прикарпатський національний університет ім. В. Стефаника, м. Івано-Франківськ

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СПИННОМОЗКОВИХ ВУЗЛІВ ПРИ ФІЗИЧНОМУ НАВАНТАЖЕННІ НА ТЛІ ПОПЕРЕДНЬОЇ ГІПОКІНЕЗІЇ

В експерименті на статевозрілих лабораторних щурах показано, що термін нормалізації складових компонентів спинномозкового вузла після гіпокінезії залежить від кратності впливу фізичного навантаження. Формування довготривалого структурного сліду адаптації пов'язано з ранньою і чітко вираженою реакцією мікрогемосудин спинномозкових вузлів.

Ключові слова: спинномозковий вузол, нейрон, гліцит, гемокапіляр.

Робота є частиною науково-дослідної роботи кафедри теорії та методики фізичної культури і спорту Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника “Структурний слід адаптації елементів простої рефлекторної дуги при гіпокінезії і фізичному навантаженні в онтогенезі” (номер держреєстрації 0111U000873).

У формуванні структурного сліду адаптації в умовах гіпокінезії (ГК) важливу роль виконує морфофункціональна перебудова окремих елементів простої рефлекторної дуги (РД). Існуючі дані говорять про зв'язок швидкості відновлення структури скелетних м'язів з швидкістю та повнотою їх реінервації і про вплив нейротрофічних факторів на процеси диференціювання м'язових волокон (МВ) [4, 5, 13]. Відомо, що фізичне навантаження має високу біологічну активність і є потужним негентропійним адаптогенним фактором [8, 9]. Питання про його вплив на м'язові тканини досить широко обговорене у вітчизняній і зарубіжній літературі [7,8,9,10,11]. Що ж стосується дії фізичного навантаження на нервову систему, то в цій галузі, дослідження проводились в значно меншому об'ємі, а їх результати розрізнені і несистематизовані [4, 5, 8, 12]. Між тим роль нервової системи в реалізації компенсаторних реакцій організму в межах адаптаційного синдрому важко переоцінити, і якщо фізіологічні механізми пристосувальних реакцій різних відділів нервової системи на фізичне навантаження вивчені досить глибоко [2, 4, 6, 7], то про їх морфологічний аспект відомо набагато менше.

Метою роботи було вивчення морфофункціонального стану нейронів спинно-мозкових вузлів (СМВ) L2-L5 при фізичному навантаженні на тлі попередньої гіпокінезії.

Матеріал і методи дослідження. Робота виконана на 250 самцях дорослих білих безпородних щурів, масою 150-220 г. Для моделювання ГК щурів утримували в клітках-пеналах розмірами 10x5x8см протягом 230 дб. Були сформовані 3 групи тварин: контрольна група тварин у яких моделювали ГК і група тварин у яких після ГК фізичне навантаження моделювали бігом в тредмілі по 20 хв 3 рази в день [11]. Щурів виводили з експерименту через кожні 5 днів починаючи з 5-ої і закінчуючи 30-ою добою. Відпрепарувували поперекові ганглії L2-L5 які відповідають спинномозковим нервам, що іннервують прямий м'яз стегна, литковий і камбалоподібний м'язи. Взятий біологічний матеріал фіксували в суміші Карнуа і заливали по стандартній методиці в парафін, потім на мікромомі робили зрізи товщиною 6 мкм. Одержані зрізи забарвлювали крезіловим фіолетовим за методом Ніссля.

На світлооптичному рівні вивчали наступні характеристики нервових клітин: площа профільного поля нейрона, площа ядра, ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС). При дослідженні нейронів СМВ робили кількісну оцінку клітин з морфологічними ознаками різних функціональних станів. Для статистичної обробки одержаних результатів застосовували критерій Манна-Уїтні і метод Фішера.

Результати дослідження та їх обговорення. На основі даних наукової літератури [5, 15] і бімодального характеру розподілу морфометричних показників нейронів СМВ [8, 9] було виділено 2 основні групи нейронів: 1) великі, світлі і 2) темні, дрібні. Світлі нейрони мають середній лінійний поперечний розмір більше 30 мкм, низьку світло- та електроннооптичну щільність перикаріону і вогнищевий розподіл тигроїдної речовини Ніссля. Темні нейрони характеризуються меншими середніми метричними показниками, мають округлу форму, цитоплазма таких клітин електроннощільна і містить дифузно розподілену речовину Ніссля.

Нейронна популяція СМВ після довготривалої ГК складається також з двох клітинних популяцій. Одна з них характеризується зміщенням тигроїдної субстанції на периферію цитоплазми і явищами хроматолізу, що виражається в збільшенні просвітленої перинуклеарної зони. Друга група нейроцитів має розширений перичелюлярний простір, у них змінюється коефіцієнт форми, що свідчить про явища деформації клітинної мембрани, різного ступеня вираженості. Такі зміни можна охарактеризувати як реактивні, які ще не досягли рівня типових апоптозних змін [1]. Необхідно відзначити, що в межах гістологічних зрізів СМВ морфологічно змінені клітини формують окремі групи, за межами яких розташовуються незмінені нейроцити. Проведений кількісний підрахунок нейронів різного типу з реактивними змінами показав, що в першу чергу, і в найбільшій кількості вони виявляються в темних клітинах. В кінці терміну ГК частка нейроцитів II типу із зворотними змінами вірогідно знижується до $22,3 \pm 1,27\%$ ($p < 0,05$). Серед цієї групи нейроцитів зростає кількість деформованих, інтенсивно забарвлених клітин, часто з вакуолізованою цитоплазмою і деструктивно зміненими субклітинними компонентами, що не дає можливості для їх ідентифікації. Максимальна кількість реактивно змінених клітин I групи досягає максимуму на 230 добу від початку моделювання ГК і становить в середньому

43,2±2,24% від загальної кількості клітин. Внаслідок незворотних змін, що приводять до повної деструкції нейронів, формуються гліальні вузлики, як результат нейрофагії і реактивної міграції сателітних гліоцитів.

Показник ЯЦС у світлих нейроцитах нижчий за контрольні дані (0,11±0,002), тоді як у темних нейроцитах він вірогідно перевищує аналогічні значення контрольної групи (0,20±0,004).

В результаті експериментального дослідження було встановлено, що реакція клітинного компоненту СМВ на фізичне навантаження після ГК є неспецифічною і залежить від виду нейронів. Так, п'яти разова дія ФН в більшій мірі викликає зміни органел у світлих нейронах. Насамперед це стосується мітохондрій: їх матрикс просвітлений, вакуолізований, при цьому повністю зберігаються кристи. Такі структурні зміни мітохондрій є неспецифічними і спостерігаються при дії самих різноманітних альтеруючих факторів [3, 6, 13]. Тому можна думати, що в нашому випадку ці зміни є універсальною пристосувальною реакцією на зовнішній вплив, яка веде до інтенсифікації процесів енергозабезпечення клітин. В багатьох нейронах ядра мають нерівні контури, збільшується число лізосом, гіпертрофуються цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки та елементи комплексу Гольджі (рис. А).

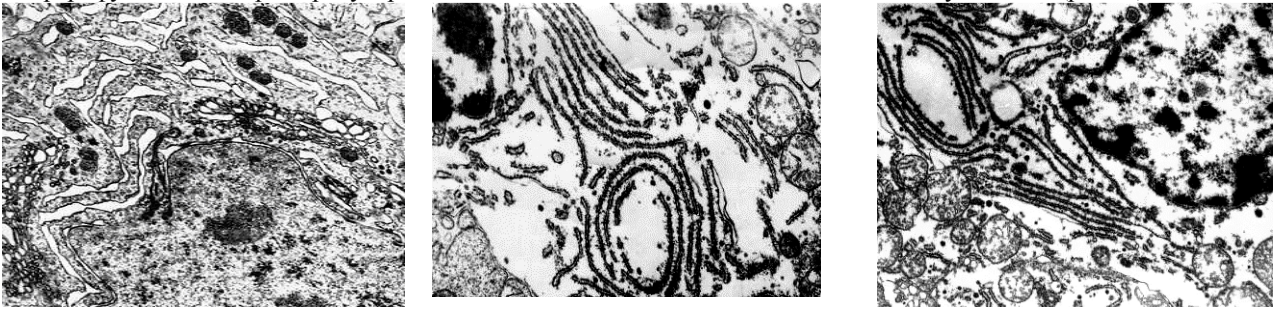


Рис. Структура нейроцита після фізичного навантаження на тлі попередньої гіпокнезії. Зб.: а x 15000, б, в x 10000.

В нейроплазмі окремих нейронів утворюються спіралеподібні тільця, які є результатом закручування цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки (рис. Б, В). Значно збільшується кількість вільних рибосом, що забезпечує високу швидкість і зворотність функціональних змін [5,7]. Однак не у всіх нейронах СМВ спостерігаються реактивні процеси, оскільки часто зустрічаються клітини без виражених компенсаторних змін. Проведений морфометричний аналіз показав, що кількість таких нейронів може становити до 45,0% від загальної їх чисельності на 1 мкм² поперечного перерізу СМВ. При збільшенні кратності дії ФН до 10 разів зміни цитоплазматичних структур в нейронах підсилюються і набувають більш генералізованого характеру. В світлих нейронах втрачається чіткість структури глибок хроматофільної субстанції. В складі цих нейронів визначаються лізосоми, аутолізосоми, ліпофусцинові тільця. Мітохондрії нейронів представляють неоднорідну популяцію. Поряд з набряклими, вакуолізованими мітохондріями з ознаками дезорієнтації і деградації крист зустрічаються дрібні і середні мітохондрії із збереженими небагаточисленними кристами.

Така розбіжність в будові мітохондрій може зустрічатись навіть в межах одного нейрона. Подібні зміни можуть зустрічатись також в нейронах інтактних тварин. Однак їх одночасна комбінація з розширенням цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, поява дрібних пухирців покритих мембранною оболонкою, зменшення кількості рибосом вказує на розвиток клітинної гіпоксії [2, 5, 6].

Широкий спектр ультраструктурних змін у мітохондріях при ГК лишній раз підтверджує доцільність їх розподілу на декілька морфо-функціональних типів, що узгоджується з даними про гетерогенність мітохондрій за ступенем активності їх ферментів [10]. Значна різниця в активності ферментів мітохондрій може служити однією з причин їх високої чутливості до гіпоксії [7, 12].

Із збільшенням кратності дії ФН до 15 раз з'являються зміни також і в темних нейронах. В їх цитоплазмі виявляються ділянки концентрації вакуолізованих мітохондрій, відмічається гіпертрофія комплексу Гольджі, розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, що часто супроводжується розгалуженням і збільшенням їх кількості.

Реакція ядерного апарату на 20-ти кратний вплив ФН проявляється утворенням неглибоких інвагінацій каріолеми в окремих нейронах. Із збільшенням кратності дії фізичного навантаження зміни білоксинтезуючого апарату стають більш вираженими, особливо у світлих нейронах. В них з'являються помірно розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки із значною кількістю фіксованих рибосом. Поряд з цим каріолема утворює велику кількість інвагінацій, розширюється перинуклеарний простір, ядрця вакуолізуються і збільшується їх кількість. Після 25-ти кратного впливу ФН в каріолемі з'являються структури, які в спеціальній літературі описані під узагальненою назвою “відкриті пори” [2, 3, 5, 9]. Можливо, що цей факт відображає процес активації трансмембранного обміну і через такі пори здійснюється транспорт ядерних продуктів в цитоплазму і, в першу чергу, РНК. Іноді в ядрах із зміщеним ядрцем спостерігаються округлі тільця, які утворюються внаслідок активації нейрона і судячи за даними наукової літератури можуть утворюватись при дії на організм не тільки фізичного навантаження, але й інших хімічних та фізичних факторів [4]. Після 30-ти кратного впливу ФН в цитоплазмі нейронів СМВ виявляється підвищена кількість мітохондрій з електронно-щільним матриксом і великою кількістю крист, цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі збільшені в розмірах, збільшене також число рибосом. Останні розташовуються як на мембранах гранулярної ендоплазматичної сітки, так і у вигляді полісом. Всі ці явища можуть свідчити на

користь інтенсифікації синтетичних процесів, які направлені на відновлення початкової структурної і функціональної організації клітини [5, 7].

Вплив ФН після довготривалої ГК проявляється зниженням частки нейроцитів з деструктивними змінами. Кількість світлих клітин з реактивними змінами зменшується в середньому на $12,7 \pm 2,23\%$ і на $18,8 \pm 0,9\%$ від загальної кількості клітин знижується частка темних нейроцитів ($p < 0,05$). Значення ЯЦС для нейроцитів II типу вірогідних відмінностей від першої групи клітин не мають, проте відношення площі ядра і цитоплазми дрібних темних нейроцитів після ФН було в середньому у 1,2 рази нижчим від аналогічного значення у контрольних тварин.

Виявлений поліморфізм тинкторіальних і морфометричних характеристик нейронів СМВ шура у відповідь на ГК, ймовірно, є наслідком дегенерації частини нервових закінчень, пошкоджених внаслідок локального дефіциту трофобластичного фактора і фактору росту нервової тканини [8, 9, 13, 14]. Динаміка зміни стану нервових клітин демонструє зв'язок із стадіями ГК та її тривалістю. Зниження частки деструктивно змінених клітин, підвищення кількості клітин з реактивними змінами і зменшення показника ЯЦС темних нейроцитів відповідає активації репаративних процесів при застосуванні ФН.

Фізичне навантаження не зразу приводить до відновлення ультраструктури гліоцитів. Реактивні зміни розвиваються лише при багатократній (в середньому при 10-15-ти разовій) дії ФН. Вони проявляються локальним розширенням зон контакту гліоцитів з нейроном і підсиленням міжгліоцитних зв'язків у вигляді взаємних інвагінацій. Ультраструктура мантійних гліоцитів свідчить про превалювання в більшості з них відновних репаративних процесів: ядра містять 1-2 ядерця, підсилюється електронно-оптична щільність цитоплазми, збільшується кількість піноцитозних пухирців особливо на стороні, яка обернена до тіла нейрона. Нерідко вони зливаються в більш крупні вакуолі, всередині яких зустрічаються багатокамерні структури.

У піддослідних тварин протягом всього експерименту в СМВ відмічена реакція гемомікроциркуляторного русла. Вплив ФН після довготривалої ГК викликає нормалізацію стінки мікрогемосудин, яка відбувається вже при п'яти кратному застосуванні. Збагачується мікрорельєф і нерівномірність обрисів люменальної поверхні, збільшується кількість піноцитозних пухирців в цитоплазмі ендотеліоцитів (рис. 2). Вираженість цих явищ наростає із збільшенням кратності дії ФН. Каріолема утворює глибокі інвагінації. Окремі ядра мають рівномірне розподілений хроматин, нерідко зустрічаються 1-2 ядерця. Підсилюється складчатість базальної і контактної поверхні ендотеліоцитів, нормалізується структура міжклітинних контактів. Базальна мембрана мікрогемосудин зберігає свою правильну класичну будову.

Висновки

1. Фізичне навантаження після довготривалої гіпокінезії викликає суттєву морфофункціональну перебудову складових компонентів спинномозкових вузлів. Більш рання реакція властива світлим нейронам. Інтенсивність ультраструктурних змін залежить від кратності дії фізичного навантаження: при початкових дозах вони стосуються переважно цитоплазматичних структур нейронів, при багаторазових – торкаються також структури ядра, з'являються і посилюються реактивні зміни у гліоцитах. Рання і чітко виражена реакція на вплив фізичного навантаження спостерігається в ендотеліоцитах мікрогемосудин.
2. Ультраструктурні зміни в спинномозковому вузлі після гіпокінезії зворотні, але термін нормалізації ультраструктури всіх клітинних компонентів перебуває у прямопропорційній залежності від кратності впливу фізичного навантаження, що лежить в основі формування довготривалого структурного сліду адаптації.

Перспективи подальших досліджень. В даному напрямку полягають у вивченні гістоультраструктурних змінних елементів простої рефлекторної дуги при фізичному навантаженні на тлі попередньої гіпокінезії.

Література

1. Апоптоз та некроз складових компонентів простої рефлекторної дуги протягом постнатального періоду онтогенезу / В.А. Левицький, А.П. Мотуляк, І.В. Левицький [та ін.] // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л.Шупика. – Київ, 2008. – С. 258–264
2. Боголепов Н.Н. Ультраструктура мозгу при гіпоксії / Н.Н. Боголепов. – М.: Медицина, 1979. – 168 с.
3. Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении / Л.Е. Панин, Н.Н. Маянская. – Новосибирск, Наука, 1987. – 95 с.
4. Ломагин А.Г. Нарушение и восстановление ультраструктуры ядрышка при повреждении нейрона физическими и химическими агентами // Успехи соврем. биол., 1987. – Т.103, № 1. – С.81-93.
5. Манина А.А. Ультраструктурные основы деятельности мозга / А.А. Манина. – М.: Медицина, 1976. – 237 с.
6. Мошков Д.А. Адаптация и ультраструктура нейрона / Д.А. Мошков. – М.: Наука, 1985. – 198 с.
7. Машанский В.Ф. Ранние реакции клеточных органоидов / В.Ф. Машанский, И.М. Рабинович. – Л.: Наука, 1987. – 311с.
8. Мицкан Б.М. Вплив фізичних навантажень на ультраструктурну організацію нейронів спинномозкового вузла / Б.М. Мицкан, С.Лі. Попель // «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень»: мат-ли наук.-практ. конф.: зб. статей. – Тернопіль, 2008. – С. 37–38.
9. Мицкан Б.М. Ультраструктурна організація нейронів спинномозкового вузла під впливом фізичних навантажень середнього і субмаксимального рівня / Б.М. Мицкан, С.Лі. Попель // «Актуальні проблеми функціональної морфології та інтегративної антропології» і «Прикладні аспекти морфології»: мат-ли наук.-практ. конф.: зб. стат. – Вінниця, 2009. – С. 203–205.
10. Мармарян Г.Ю. Ферментативный спектр мышечной ткани / Г.Ю. Мармарян // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2011. – № 2. – С. 3–6.
11. Мосендз Т.М. Авторське свідоцтво № 44931. Науковий твір з таблицею «Тривалість, об'єм та інтенсивність фізичних навантажень в експерименті». Дата реєстрації 31.07.2012.
12. Некрасова О.Е. Регуляция фибронектином формы и внутриклеточного распределения митохондрий мышечного волокна / О.Е. Некрасова, А.А. Минин, А.В. Кулик // Биологические мембраны. – 2005. – Т. 22, № 2. – С. 105–112.

13. Burbach G. The neurosensory tachykinins substance P and neurokinin a directly induce keratinocyte nerve growth factor / G. Burbach, Do. Kim, A. Zivony [et al.] // J. Investigative Dermatology. – 2001. – V. 117, № 5. – P. 1075–1082.
14. Cruise B. Wounds increase activin in skin and a vasoactive neuropeptide in sensory ganglia / B. Cruise, P. Xu, F. Hall // Developmental biology. – 2004. – V. 271. – P.1–10.
15. Tandrup T. A method for unbiased and efficient estimation of number and mean volume of specified neuron subtypes in rat dorsal root ganglion / T. Tandrup // J Comp Neurol. – 1993. – V. 329, № 2. – P. 269–276.

Реферати

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СПИННОМОЗГОВЫХ УЗЛОВ ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ НА ФОНЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ГИПОКИНЕЗИИ

Попель С.Л.

В эксперименте на половозрелых лабораторных крысах показано, что срок нормализации составных компонентов спинномозгового узла после гипокинезии зависит от кратности влияния физической нагрузки. Формирование долговременного структурного следа адаптации связано с ранней и четко выраженной реакцией микрогемососудов спинномозговых узлов.

Ключевые слова: спинномозговой узел, нейрон, глиоцит, гемокapилляр.

Стаття надійшла 30.10.2012 р.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF SPINAL NODES AT PHYSICAL LOADING ON A BACKGROUND PRELIMINARY OF HYPOKYNESIA

Popel S.L.

In the experiment it is shown on laboratory rats, that the term of normalization of component components of spinal node after hypokynesia depends on multiple of influencing of the physical loading. Forming of of long duration structural track of adaptation is related to the early and expressly expressed reaction of blood vessels spinal nodes.

Key words: spinal nodes, neuron, glyocytes, blood vessels.

Рецензент проф. Гепашенко С.Б.

УДК 616-008.843.1:577.112.85-071

Е.Г. Романенко, И.А. Клеиния

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМИ Украины», г. Днепропетровск

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩИХ ГЛИКОПРОТЕИНОВ В СЛЮНЕ

Предложен метод определения общих гликопротеинов в слюне. Наиболее низкий уровень гликопротеинов зарегистрирован у детей с воспалительными и эрозивными изменениями в слизистой оболочке гастродуоденальной зоны. Показано, что снижение количества гликопротеинов в слюне у детей с гастродуоденальной патологией ведёт к ухудшению гигиены полости рта с последующим развитием воспаления в слизистой оболочке дёсен.

Ключевые слова: гликопротеины, слюна, гастродуоденальная патология, дети.

Работа является фрагментом НИР кафедры детской стоматологии ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины» «Разработка и усовершенствование методов диагностики, профилактики, комплексного лечения стоматологических заболеваний у детей» (№ гос. регистрации 011U002790).

В последнее время большое внимание уделяется неинвазивным методам исследования, исключающим возможность инфицирования больного и стрессового воздействия при взятии крови. Удобным объектом неинвазивного метода является слюна. Медиков привлекают также простота взятия и анализа проб слюны, возможность частого взятия проб и полная безопасность при этом для здоровья пациента. Основное же внимание исследователей привлекают возможности диагностирования патологических состояний разных систем организма [1]. Смешанная слюна представляет собой вязкую жидкость с удельным весом от 1001 до 1017. Большую часть органических соединений слюны представляют белковые соединения. Основную группу белковых соединений составляют гликопротеины, большая часть которых представлена муцином. Гликопротеины - сложные белки, содержащие углеводы. Содержание углеводов в гликопротеинах варьирует от долей процента до 80%; их полисахаридная часть может содержать глюкозамин, галактозамин, галактозу, фукозу и др. углеводы. Увлажнение и покрытие слизистой оболочки слоем слизи (муцина) предохраняет ее от высыхания. Гликопротеины предотвращают адгезию и колонизацию микробных клеток к эпителию слизистой оболочки полости рта, защищают ткани от физического повреждения [4]. Получены сведения, что sIgA реализует свои защитные свойства исключительно в составе слизи. В опытах с культурой клеток, заражённых микробным штаммом, было показано, что один лишь sIgA или только неиммунная слизь не способны препятствовать колонизации микроорганизмов на клеточном монослое [2]. В доступной нам литературе мы встретили единственный метод количественного определения муцина (гликопротеинов) в слюне (Э.Н.Коробейникова, Е.И.Ильиных, рационализаторское предложение 19/81 от 09.12.06) [3].

Целью работы было подобрать доступный метод, позволяющий определить общие гликопротеины в минимальном количестве слюны и с достаточной точностью.

Материал и методы исследования: При разработке метода мы руководствовались тем, что гликопротеин — кислый белок. В связи с этим гликопротеины из слюны выделяли 20% раствором сульфосалициловой кислоты, как это предлагают авторы для количественного их определения в желудочном соке [5]. Для проведения исследования необходимо: фотоэлектроколориметр, термостат, центрифуга на 10000 оборотов/минуту, обеззоленные фильтры с синей ленточкой, пробирки, воронки.