



УДК 611.018.86+613.65+612.824

Структурний слід адаптації у рухових центрах спинного мозку щурів при гіпокінезії з наступним фізичним навантаженням у відновному періоді

С.Л. Попель¹, Б.М. Мицкан¹, С.З. Краснопольський², І.В. Мельник²

¹Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, Івано-Франківськ, Україна

²Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, Україна

Закономірності структурної перебудови складових компонентів спинного мозку за дії різних чинників є предметом вивчення багатьох дослідників. Однак зміни морфометричних параметрів нейронів рухових центрів при гіпокінезії залишаються поза увагою широкого кола авторів. Вивчення морфофункціональної перебудови нейронів та їх кровоносного русла стало метою даної роботи. Дослідження виконані на 55 лабораторних щурах лінії Вістар. Матеріалом служили L5-S2 сегменти спинного мозку. Застосовували гістологічні способи забарвлення поперечних зрізів спинного мозку та електронномікроскопічний метод для встановлення ступеня стійкості окремих ланок нейро-гематичного бар'єру за характером проходження часток колоїдного золота (5 нм) як маркера проникності капілярної стінки. При довготривалій гіпокінезії у спинному мозку щурів спостерігаються морфологічні зміни форми та розмірів ядер, перикаріона нейронів передніх рогів усіх досліджуваних сегментів спинного мозку. Збільшується кількість гіпохромних, гіперхромних нейронів без ознак і з ознаками деструктивних змін, з'являються клітини-тіні та випадки сателітозу та нейронофагії. Спостерігається зниження білоксинтетичної функції нейронів, про що свідчать ультраструктурні зміни їх субклітинних компонентів. Структурна перебудова нейронів викликає закономірні зміни їх кровопостачання. Внаслідок підвищення проникності стінки мікрогемосудин для часток маркера, кон'югованого з дрібномолекулярними білками плазми крові, спостерігається набряк ендотеліоцитів і перицитів, базальна мембрана локально втрачає правильну тришарову будову, має зони гомогенізації та розшарування. При тривалій гіпокінезії частки колоїдного золота виявляються також у паравазальному просторі. 30-кратне фізичне навантаження середньої аеробної потужності (150-метровий пробіг у трьохмілі двічі на день) сприяє усуненню цих морфофункціональних змін у складових компонентах рухових ядер спинного мозку.

Ключові слова: рухова активність; рухові нервові центри; нейрони; лабораторні тварини

Structural trace of adaptation in motive nuclei of spinal cord of rats in hypokinesia and after physical loading in the recovery period

S.L. Popel¹, B.M. Mitckan¹, S.Z. Krasnopolsky², I.V. Melnik²

¹Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

²Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

The purpose of this paper is to study the morphological changes of neurocytes in spinal cord of rats in hypokinesia and subsequent physical loading. Studies were performed on 55 laboratory rats of Wistar line. Materials of the research were the anterior horns of the gray matter of L5-S2 spinal segments. Preparations stained by Nissl and Viktorov were examined histologically. Hypokinesia was modeled following on the author's technique. It was established that during prolonged hypokinesia in neurocytes of spinal cord of rats morphological changes in cell size and shape of the motor nuclei of all segments under study have been recorded. The number of hypochromic, hyperchromic destructively unchanged and hyperchromic destructively altered neurocytes increase; shadow cells appears, as well as cases of

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, вул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ, 76018, Україна
Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Shevchenko Str., 57, Ivano-Frankivsk, 76018, Ukraine

Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76000, Україна
Ivano-Frankivsk National Medical University, Halyc'ka Str., 2, Ivano-Frankivsk, 76000, Ukraine
Tel.: +38-095-385-14-25. E-mail: serg_popel@mail.ru

satellitosis and neuronophagia. Decrease in of albumen synthetical neurocyte function has been recorded. Physical loading of the average aerobic capacity leads to normalization of structural and functional state of neurocytes and enhances the reparative processes, as evidenced by a number of positive changes in morphometric parameters: increase in the number of normochromic neurocytes and decreasing the number of hyper- and hypochromic neurocytes with destructive signs, absence of pyknotic forms. Morphological parameters of neurocytes and their nuclei after physical loading of average aerobic capacity do not differ from those in the control group of intact animals. In neurocytes of this group of rats RNA concentration increases by 12.6% compared to animals after prolonged hypokinesia. Neurocytes of spinal cord of rats after prolonged hypokinesia develop significant morphological changes which are characterized by emergence of a significant number of hyperchromic neurocytes with signs of destructive changes and shadow cells, as well as and hypochromic neurocytes with signs of destructive changes, reduction in size and change of shape of perikaryons of neurocytes and their nuclei. Morphological changes of neurocytes after prolonged hypokinesia are accompanied by violations of biosynthetic processes, as evidenced by RNA decrease in the cytoplasm of efferent neurocytes of spinal cord of rats. Physical loading of average aerobic capacity leads to normalization of structural and functional state of neurocytes and promotes the reparative processes supported by positive changes in morphometric parameters.

Keywords: hypokinesia; physical loading; spinal cord; neurocytes; rats

Вступ

Однією з актуальних проблем сучасної біології та медицини є вивчення закономірностей порушення структури спинномозкових нейронів при довготривалій гіпокінезії (ДГК) (Smirnov et al., 2000). За даними ВООЗ, перше місце серед причин первинної інвалідності посідають травми хребетного стовпа та ураження спинного мозку (СМ). Лікування таких травм завжди пов'язане з тривалою іммобілізацією всього організму. За даними окремих дослідників (Stogov, 2009; Narymbetova et al., 2011; Soubeyrand et al., 2013), унаслідок тривалої вимушеної нерухомості розвивається складний симптомокомплекс, ключовими ланками якого є пригнічення у тканинах СМ аеробного та активація анаеробного шляху утилізації глюкози, зниження енергозабезпечення, порушення транспорту різних іонів (Sazontova et al., 2007), зміна кислотно-лужного балансу (Ivanov, 2002; Ciobica et al., 2010) на фоні ішемії, яка виникає поступо (Machovic et al., 2013), дефіциту кисню (Mickan and Popel, 2001; Willis, 2011) та активації процесів перекисного окислення ліпідів (Kamskova, 2001; Cash et al., 2014).

Навіть короточасна ішемія СМ веде до глибоких пошкоджень нейронів через нестачу утворення важливих метаболітів (Bagautdinov and Vasil'ev, 2005; Polubinska et al., 2013), окисидантного стресу (Ciobica et al., 2010; Sies, 2015), порушення синтезу білків (Mickan and Popel, 2001; Jerastova et al., 2001; Sazontova et al., 2007). За даними багатьох авторів (Nechipurenko et al., 2008; Stogov, 2009), унаслідок деструкції власних білків у м'язових волокнах (яка виникає як реакція на депривацію рухової активності та відсутність аферентної імпульсації) виникає сенсibilізація організму, що істотно впливає на стан нейронів СМ (Nepomnjashchih et al., 2009).

Існують два критичні рівні мозкового кровотоку: перший (20 мл/100 г/хв) – для біоелектричної активності клітин, другий (15 мл/100 г/хв) – для біологічних насосів та підтримання іонного гомеостазу (Nechipurenko et al., 2008; Rakowska et al., 2012). Клітини з об'ємним кровотоком, що міститься між двома цими рівнями, утворюють зону ішемічної «півтіні». При цьому функція клітин тимчасово порушується, але структурних незворотних пошкоджень ще немає. Для профілактики іммобілізаційного стресу та ішемії нейронів СМ необхідне відновлення функції цієї зони ішемічної «півтіні» (Matsuzaki and Sampath, 2007). Для практичної

медицини інтерес становлять не тільки патогенетичні зміни при ДГК та ішемії, а й так звані реабілітаційні наслідки впливу фізичного навантаження різного рівня інтенсивності після ДГК. Відновлення кровотоку, яке може відбутись як у разі усунення умов іммобілізації, так і після фізичного навантаження середньої аеробної потужності (ФНСАП), викликає каскад адаптаційних процесів, пов'язаних із постгіпокінетичним синдромом (Mickan and Popel, 2001; Narymbetova et al., 2011). При цьому кров надходить у зону ішемії, в якій стінки мікросудин мають підвищену проникність, особливо для дрібномолекулярних білків плазми крові (Popel, 2013). Це викликає свій комплекс патогенетичних механізмів, який також необхідно враховувати, розробляючи реабілітаційні заходи. Після ДГК кисень, який вільно надходить у тканини СМ, включається у процеси вільнорадикального окислення, яке зумовлює розвиток цитотоксичного ефекту (Sazontova et al., 2007; Chugunov et al., 2009), внаслідок якого посилюються мембранні пошкодження, змінюється водно-електролітний баланс між поза- та внутрішньоклітинним середовищем, наростає енергодефіцит у зоні ішемічної «напівтіні» (Bagautdinov et al., 2000; Wu et al., 2006; Machovic et al., 2013). Враховуючи значну роль захворювань, пов'язаних із ДГК, у патогенезі яких лежить ішемічний компонент, важливо виявити морфофункціональні зміни нейронів СМ при ДГК і в умовах ФНСАП.

Мета даної статті – охарактеризувати морфофункціональні зміни нейронів спинного мозку щурів при гіпокінезії та наступному фізичному навантаженні.

Матеріал і методи досліджень

Експерименти проведено на 55 лабораторних щурах-самцях масою 210–290 г. Тварини перебували у спеціальних клітках-пеналах в умовах вільного споживання корму та питної води (стандартний раціон для лабораторних щурів). Усі експерименти схвалено етичною комісією Прикарпатського національного університету та проведено згідно з «Правилами поводження з експериментальними тваринами» та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах». Відбір експериментальних тварин зумовлений схожістю нейроангіоархітектоніки СМ щурів і людини.

Тварин розділили на три групи: п'ять інтактних щурів склали контрольну групу (КГ); по 25 щурів увійшли до групи порівняння (ГП) та експериментальної групи (ЕГ). У тварин ГП ДГК моделювали за методикою

Б.М. Мицкана (Mickan and Popel, 2001). Рівень фізичного навантаження обирали згідно з авторською методикою (Popel and Mickan, 2013) з урахуванням рекомендацій В.А. Левицького та співавторів (Levitc'kiy et al., 2014). Евтаназію тварин проводили через 240 діб після початку моделювання гіпокінезії. Після декапітації тканину СМ фіксували в рідині Карнуа, після чого матеріал зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, просочували ксилолом і поміщали в парафін. Для світлооптичного дослідження готували серійні поперечні зрізи товщиною 8–10 мкм і забарвлювали за Ейнарсоном (виявлення РНК), Нісслем (Sengul, 2015), для виявлення нейроцитів з ознаками деструкції – за Вікторовим (Victorov et al., 2000). Гістологічні та гістохімічні препарати вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР, Австрія) та фотографували за допомогою Digital camera for microscope DCM 900 (ТХР, Австрія). Морфометрію здійснювали на вказаних препаратах за допомогою програмного забезпечення NIH USA «Image J» в автоматичному або ручному режимі з урахуванням збільшення. У ході морфометричного аналізу визначали розмір і форму нейроцитів та їх ядер, кількість нейроцитів і відносний вміст (%) нормохромних, гіпохромних, гіперхромних без ознак деструктивних змін, гіперхромних з ознаками деструктивних змін нейроцитів і клітин-тіней.

Судини гемомікроциркуляторного руслу (ГМЦР) СМ вивчали під електронним мікроскопом ПЕМ-100 (ВО «SELMІ», м. Суми, Україна). Збирання матеріалу та приготування препаратів для електронної мікроскопії проводили за загальноприйнятими правилами. Маркер судинної проникності (колоїдне золото) готували за авторською методикою (Popel, 2013), з урахуванням рекомендацій Dykman and Khlebtsov (2012), кон'югували з альбуміном плазми крові та вводили у кровоносне русло через хвостову вену з розрахунку 5,0 мл/кг маси тварин (1,25 мл за маси тіла щура 250 г).

Для порівняння морфометричних параметрів використано непараметричний критерій Манна-Уїтні. Від-

мінності вважалися вірогідними за $P < 0,05$. Статистичну обробку даних здійснювали із застосуванням пакета Statistica 6.0. Розраховували середнє, похибку середнього та середньоквадратичне відхилення (Rebrova, 2006).

Результати досліджень

Після 240 діб із початку моделювання ДГК на гістологічних препаратах відносна щільність розташування нейроцитів порівняно з тваринами КГ значно змінюється. При цьому збільшується кількість гіперхромних з ознаками деструктивних змін і гіпохромних нейроцитів (рис. 1). У тварин ГП спостерігалися випадки сателітозу та нейронофагії (рис. 2). При цьому у передніх рогах сірої речовини СМ відносна кількість нормохромних нейроцитів зменшується на 16,8% ($P < 0,05$). Трапляються нейроцити з розширеним апікальним відростком. У гіперхромних нейроцитах з ознаками деструктивних змін він спіралеподібно закручується. У цитоплазмі деяких нейроцитів спостерігається частковий лізис хроматофільної речовини. Ядерця в ядрах більшості нейроцитів розташовані ексцентрично.

Клітинне тіло пікноморфних нейроцитів характеризується неправильною формою. Порівняно з іншими видами нейроцитів їх ядра пікнотичні, гіперхромні, мають менший розмір і найчастіше не візуалізуються. Аксон у цих клітинах нерідко піддається інтенсивному забарвленню, має пряму або зигзагоподібну форму. Іноді в центрі таких клітин спостерігаються ділянки зниженої хроматофільії.

Під час забарвлення гістологічних препаратів для виявлення нейроцитів з ознаками деструктивних змін (Victorov et al., 2000) встановлено, що вони практично відсутні у тварин КГ (тільки 1,0–1,2%) і з'являються в усіх тварин як при ДГК, так і при ФНСАП. У СМ тварин ГП деструктивно змінені нейроцити складають 27,9% серед усіх нейроцитів.

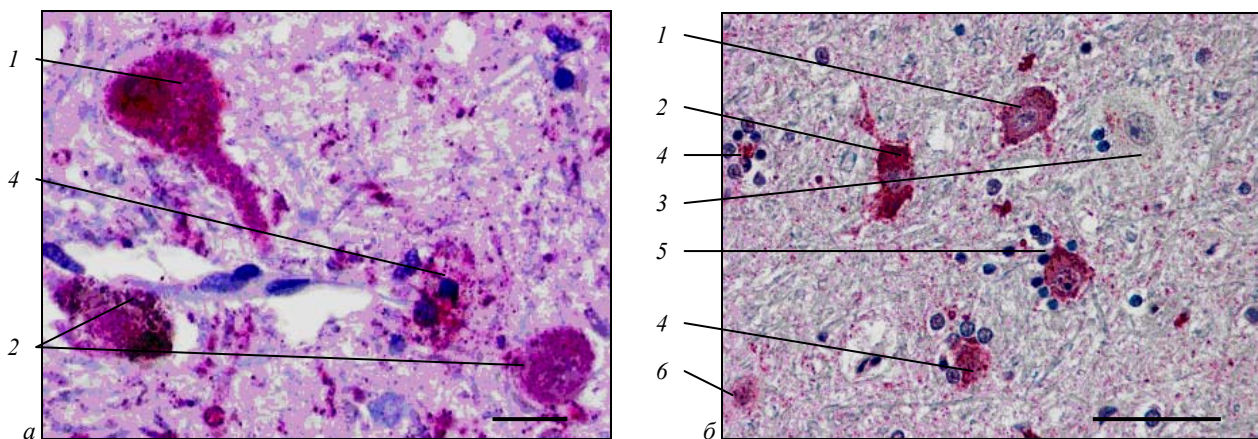


Рис. 1. Гістологічна будова нейроцитів передніх рогів S_1 спинного мозку щура при довготривалій гіпокінезії:

1 – гіперхромний нейроцит без ознак деструкції, 2 – гіперхромний нейроцит з ознаками деструкції,

3 – гіпохромний нейроцит, 4 – нейронофагія, 5 – сателітоз, 6 – клітина-тінь;

забарвлення за Нісслем; лінії знизу рисунків відповідають 10 мкм (а) та 100 мкм (б)

У цій групі тварин нейроцити втрачають свою сферичність, про що свідчить зменшення форм-фактора на 11,4% порівняно з контролем ($P < 0,05$). Ядра

нейроцитів видовжуються, про що свідчить збільшення чинника елонгації на 4,8% і зменшення мінімального діаметра ядра на 5,3% порівняно з контролем ($P < 0,05$).

Нейроцити при ДГК зменшуються в розмірах, про що свідчить зменшення площі нейроцитів, максимального діаметра та периметра порівняно зі значеннями тварин у контролі. Статистично вірогідно зменшуються площа ядер нейроцитів, їх периметр, максимальний і мінімальний діаметри порівняно зі значеннями в КГ.

Клітини втрачають свою сферичність як порівняно з контролем, так і з тваринами ЕГ (оскільки зменшується форм-фактор), нейроцити при цьому довші, ніж в ЕГ, про що свідчить збільшення чинника елонгації (табл. 1). Ядра нейроцитів також зменшуються, проте форма їх не змінюється (табл. 2).

Таблиця 1

Морфометрична характеристика нейроцитів спинного мозку (M ± m, n = 55)

Параметри	Контроль	ДГК	ФНСАП
Площа, мкм	220,5 ± 12,5	179,1 ± 10,3*	165,0 ± 10,2*
Фактор елонгації	1,22 ± 0,04	1,42 ± 0,06	1,33 ± 0,05*
Форм-фактор	0,85 ± 0,11	0,84 ± 0,10	0,82 ± 0,12
D _{max} , мкм	20,6 ± 1,32	18,2 ± 1,14*	18,3 ± 1,11*
D _{min} , мкм	13,6 ± 1,38	12,5 ± 1,23	12,0 ± 1,15*
Периметр, мкм	56,6 ± 2,22	53,1 ± 2,19	51,4 ± 2,18*

Примітки: D_{max} – максимальний діаметр, D_{min} – мінімальний діаметр, ДГК – тривала гіпокінезія, ФНСАП – фізичне навантаження середньої аеробної потужності, * – статистично вірогідна різниця з контролем P < 0,05; * – статистично вірогідна різниця з групою тварин при гіпокінезії P < 0,05.

Таблиця 2

Морфометрична характеристика ядер нейроцитів спинного мозку щурів (M ± m, n = 55)

Параметри	Контроль	ДГК	ФНСАП
Площа, мкм	90,0 ± 2,24	71,7 ± 2,43*	70,6 ± 2,24*
D _{max}	12,4 ± 1,12	10,9 ± 1,07*	11,0 ± 1,11
D _{min}	9,2 ± 1,04	8,5 ± 1,03*	8,9 ± 1,02
Периметр, мкм	36,0 ± 2,01	32,3 ± 1,97*	32,4 ± 1,86*

Примітки: * – статистично вірогідна різниця порівняно з контролем P < 0,05.

У цитоплазмі нейроцитів тварин ГП порівняно з контролем на 23,5% зменшується вміст РНК (P < 0,05) (табл. 3). При цьому збільшується кількість гіпохромних, гіперхромних без деструктивних змін, гіперхромних нейроцитів з ознаками деструктивних змін і з'являється значна кількість клітин-тіней. При цьому кількість нейроцитів з ознаками деструктивних змін (Victorov et al., 2000) зростає в усіх препаратах. Проте загальна щільність нейроцитів в обох дослідних групах при цьому не змінюється.

Таблиця 3

Вміст РНК у цитоплазмі нейронів спинного мозку щурів, од. опт. щільності (M ± m, n = 55)

Контроль	ДГК	ФНСАП
0,22 ± 0,004	0,16 ± 0,002*	0,21 ± 0,003

Примітка: * – статистично вірогідна різниця порівняно з контролем P < 0,05.

При ДГК спостерігаються виражені структурні та біохімічні (вміст РНК у цитоплазмі) порушення нейроцитів СМ. Вищеописані зміни структури нейроцитів супроводжуються відповідною перебудовою мікросудин, які забезпечують їх кровопостачання. У першу чергу, ми відмітили зменшення просвіту прекапілярів (на 25,4%) і гемокапілярів (на 29,1%), в їх просвіті спостерігаються еритроцитарні складки (рис. 2, а).

Це пов'язано не стільки з вазоконстрикцією, як із набряком ендотеліоцитів. У цитоплазмі цих клітин спостерігаються дві групи мікропіноцитозних пухирців: світлі (діаметр 1 500 нм) і темні (діаметр не перевищує 800 нм). До їх складу включено багато часток колоїдного золота, що свідчить про підвищену проникність

стілки гемокапілярів. При цьому світлі везикули нерідко об'єднуються в трансендотеліальні каналці та мульти-везикулярні тільця (див. рис. 2 б). Морфометричні параметри мітохондрій зменшуються, спостерігається фрагментація крист. У гемокапілярах рухових ядер СМ при ДГК відбувається розширення міжендотеліальних з'єднань, через які легко проходять окремі частки колоїдного золота (рис. 2 в). Базальна мембрана має локальні потовщення та зони гомогенізації.

Після 30-разового ФНСАП у тварин ЕГ відносна кількість нормохромних нейроцитів залишається на рівні показників КГ і становить 53,7% загальної кількості нейроцитів на 1 мм² площі поперечного перерізу СМ (P < 0,05). При цьому відсоток гіперхромних з ознаками деструктивних змін нейроцитів складає тільки 12,6%, а кількість гіперхромних клітин без ознак деструкції зменшується на 14,5% порівняно з ГП (P < 0,05).

Порівняно з контролем морфометричні показники ядер та периаіону гіперхромних нейроцитів без деструктивних ознак не мали статистично вірогідних відмінностей ані при ДГК, ані при ФНСАП. Проте мінімальний діаметр у тварин ЕГ статистично вірогідно збільшується на 17,1% порівняно з ГП (P < 0,05). Гіпохромні деструктивно змінені нейроцити складають менше 10,0% (P < 0,05), що свідчить про виражену протекторну роль ФНСАП щодо підвищення стійкості нейроцитів до ДГК. Морфологічні показники нейроцитів та їх ядер після ФНСАП статистично не відрізняються від таких у контрольній групі. У нейроцитах тварин ЕГ вміст РНК збільшується на 12,6% порівняно з ГП (P < 0,05).

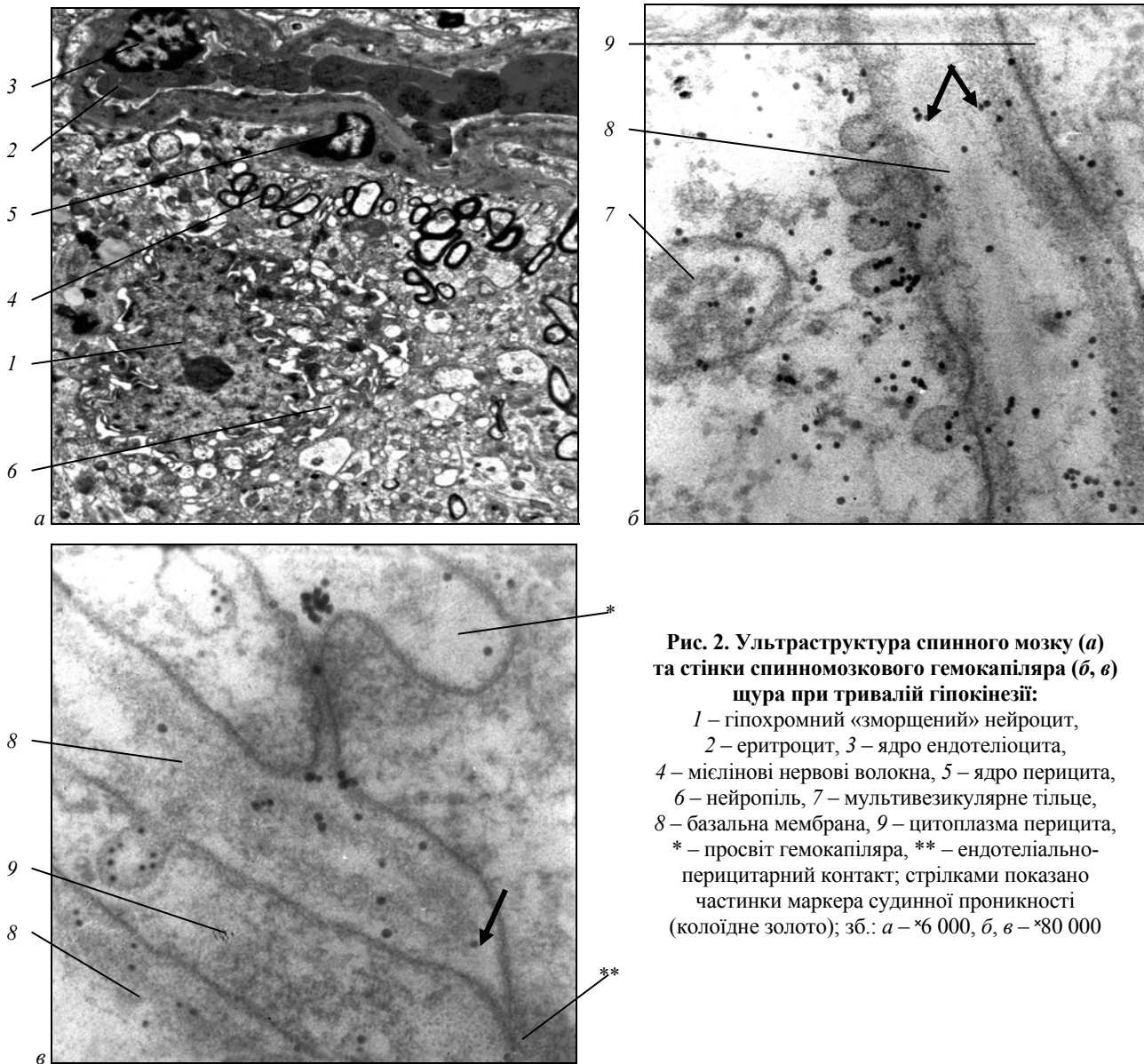


Рис. 2. Ультраструктура спинного мозку (а) та стінки спинномозкового гемокапіляра (б, в) щура при тривалій гіпокінезії:

1 – гіпохромний «зморщений» нейрцит, 2 – еритроцит, 3 – ядро ендотеліоцита, 4 – мієлінові нервові волокна, 5 – ядро перицита, 6 – нейропіль, 7 – мультівезикулярне тільце, 8 – базальна мембрана, 9 – цитоплазма перицита, * – просвіт гемокапіляра, ** – ендотеліально-перицитарний контакт; стрілками показано частинки маркера судинної проникності (колоїдне золото); зб.: а – $\times 6\ 000$, б, в – $\times 80\ 000$

Обговорення результатів досліджень

Проведене нами дослідження підтверджує результати, отримані іншими авторами (Smirnov et al., 2000; Jerastova et al., 2001; Bagautdinov and Vasil'ev, 2005; Nepomnjashchih and Bakarev, 2009), які вказують на деструктивний характер змін у різних органах і тканинах при ДГК. Ми підтримуємо їхню думку про те, що регресивні зміни в нейрочитах є неспецифічним пристосуванням організму до умов гіпокінезії, які спричинюють обмеження адаптаційних можливостей організму (Matsuzaki and Sampath, 2007). Ймовірно, такий характер морфологічних змін зумовлений накопиченням у клітинах недоокислених продуктів метаболізму та вільних радикалів, що провокує своєрідні ланцюгові реакції, які зумовлюють деградацію нейрочитів (Сіобіса et al., 2010; Soubeyrand et al., 2013). Результати досліджень вказують на те, що вільні радикали порушують цілісність мембран лізосом і підвищують їх проникність для нуклеаз. Останні виходять у цитоплазму та пошкоджують геном клітин, що узгоджується з уявленнями

багатьох авторів (Wielgat and Braszko, 2012; Machovic et al., 2013; Cash et al., 2014). ДГК супроводжується також активізацією локусів хроматину, які визначають синтез антитіл на певний вид білків. Такі явища зумовлюють утворення в організмі антитіл на власні білки та пошкодження імунними комплексами окремих клітин і тканин (Udina et al., 2011; Raimondo et al., 2011).

На підтвердження цього у віддалені терміни експерименту ми відмітили зменшення кількості нормохромних нейрочитів і збільшення числа нейрочитів із явищами дисхромії. Відомо, що порушення тинкторіальних властивостей клітин є однією з перших ознак розвитку деструктивних процесів (Zhabotinskij, 1965; Wielgat and Braszko, 2012).

При цьому гіпохромія та гіперхромія нейрочитів без деструктивних змін розцінюються як зміни зворотного характеру, а утворення «клітин-тіней», гіперхромію з деструкцією нейрочитів відносять до «важких» незворотних змін (Bagautdinov and Vasil'ev, 2005; Nechipurenko et al., 2008). Ми встановили, що ДГК суттєво впливає на морфологію «клітин-тіней»: їх перикаріон набуває розмитих контурів і характеризується різноманітним

рівнем хроматофілії. Ідентифікація ядра та ядерця в таких нейронах досить проблематична, тому ряд авторів (Matsuzaki and Sampath, 2007; Raimondo et al., 2011; Willis, 2011) такі клітини ідентифікуює як фрагменти деструктивно змінених нейронів. Ми також схильні підтримати їхню думку тому, що нерідко спостерігали «клітини-тіні» на гістологічних препаратах, а під час ультраструктурного дослідження вони виявлялися у вигляді «зморщених» і фрагментованих клітин.

Поява різноманітних форм нейронів у рухових ядрах СМ при ДГК свідчить про перенапруження метаболічних процесів в одних нейронах і незворотні зміни в інших клітинах. Підтвердженням цього є значне збільшення кількості ацидофільних нейронів. Ацидофілія свідчить про важке пошкодження нейронів та їх остаточну дегенерацію (Zhabotinskij, 1965; Mickan and Popel, 2001; Bagautdinov and Vasil'ev, 2005; Soubeyrand et al., 2013).

При ДГК структурна перебудова поєднується з вираженими біохімічними (вміст РНК у цитоплазмі) змінами нейронів СМ, що свідчить про порушення біосинтетичних процесів (Chugunov et al., 2009).

Результати експериментального вивчення метаболічних пошкоджень СМ дозволили виділити гострий і хронічний варіанти розвитку змін і відповідні спектри структурних реакцій. Гострі пошкодження нейронів пов'язані в основному з ішемією та активацією лізосомних ферментів. Їх можна умовно поділити на дві групи: вогнищеві та дифузні. Оскільки відновлення складної нейроархітектури СМ пов'язане з великими енергетичними витратами, багато з вогнищевих проявів деструкції мають пристосувально-адаптивне значення (Ivanov, 2002; Udina et al., 2011).

Під час поступового наростання порушень енергетичного метаболізму перші адаптивні реакції розвиваються на рівні мітохондріального компартменту та з часом змінюються його структурною декомпенсацією. Посилення фрагментації крист мітохондрій може мати «превентивний» характер, сприяючи усуненню незворотно пошкоджених мітохондрій, і може розглядатися як перший («метаболічний») етап клітинної стратегії, спрямованої на обмеження пошкодження. При загрозі тотального руйнування нейронів критичне значення в стратегії обмеження набуває їх «механічна» фрагментація, пов'язана з деструктивними реакціями, а також позаклітинні чинники, що забезпечують видалення пошкодженого фрагмента та репарацію утвореного дефекту. Недостатність цих реакцій або екстремальний характер дії ДГК може спричинити розповсюдження пошкодження на значну частину або всю ділянку рухового ядра СМ. Такі зміни супроводжуються дегенерацією нейронів (Soubeyrand et al., 2013).

Активність нейронів нерозривно пов'язана з навколишньою макроглією та мікроциркуляторним руслом (Shvalev et al., 2001; Popel, 2013). Із часу описання єдиної нейроно-гліо-капілярної метаболічної системи (Zhabotinskij, 1965) зацікавленість до взаємовідношень її складових компонентів невпинно зростає. І все ж питання про їх структурну перебудову за умов ДГК висвітлене недостатньо, має суперечливий характер (Smirnov et al., 2000; Nechipurenko et al., 2008; Popel, 2013; Cash et al., 2014). Повідомлення про нейрон-гліо-капілярні взає-

мовідношення у СМ при ДГК практично відсутні. Що стосується кровопостачання рухових центрів СМ, ми не зовсім згодні з окремими авторами (Matsuzaki and Sampath, 2007), які стверджують, що воно забезпечується тільки гемокапілярами, оскільки ми знаходили в ньому всі складові ГМЦР.

Відповідна перебудова МЦР у віддалені терміни ДГК відображає порушення регуляторних механізмів мікроциркуляції, які лежать в основі певного гемодинамічного режиму, зумовлюють недосконалість шляхів перерозподілу кровотоку, адекватного та економічного їх використання (Machovic et al., 2013; Popel, 2013), що спричинює виснаження функціональних резервів ГМЦР (Rakowska et al., 2012).

Зменшення кількості гемокапілярів із терміном ДГК можна пояснити порушенням зв'язку між ендотеліоцитами. Ми встановили, що фіксація між окремими ендотеліоцитами за таких умов послаблена. Внаслідок цього вони стають мобільнішими, міжклітинні контакти розширюються, що виступає своєрідним морфологічним маркером порушення бар'єрної функції гемокапілярів (Nechipurenko et al., 2008; Popel, 2013).

На фоні порушеного гемато-неврального бар'єру інтенсивність проникнення дрібномолекулярних білків у паравазальний простір збільшується, що було нами показано у ранній праці (Popel, 2013) на моделі проникнення наночасток золота через судинну стінку. Таке саме явище спостерігали різні автори у спінальних рухових центрах різних тварин, у трійчастому ганглії людини та вузлах на різному рівні симпатичного стовбура у вівці та кішки, внутрішньом'язових нервах собаки та щура (Breit, 2002; Arciszewski et al., 2006; Raimondo et al., 2011; Rusu et al., 2011). Як стверджують ці автори, нейрони в умовах зниженої аферентації вимагають для підтримання власної метаболічної активності значно інтенсивнішого кровопостачання. Однак при ДГК порушуються тісні нерво-гліо-капілярні взаємовідношення СМ. Оскільки цей комплекс поліморфний і динамічний, він залежить від гемодинаміки та механізмів мікроциркуляції, закономірностей нейроархітектури, рівня метаболізму та активності гліальних клітин (Majovski and Breiger, 2009; Willis, 2011; Popel, 2013). У даній роботі ми не проводили спеціального дослідження стану нейроглії при ДГК, але з даних літератури відомо, що екстрацелюлярні проміжки представлені міжклітинними щилинами, які обмежуються мембранними структурами нерво-гліокапілярних комплексів і розглядаються як безпосередня ланка гемато-неврального бар'єру (Rusu et al., 2011; Willis, 2011). Багатогранність фізіологічних процесів, які тут відбуваються, забезпечує підтримання сталості міжклітинного простору. Він представлений різними глікозаміногліканами (Willis, 2011) і доповнюється клітинами фібробластичного ряду, окремими колагеновими волокнами (Sengul, 2015). Зміни концентрації та конформації цих компонентів визначають виникнення значних морфофункціональних зрушень у рухових нейронах СМ за ДГК. Крім того, звертається увага на наявність у цих просторах медіаторів, нейрогормонів, гормонів периферичних ендокринних залоз та інших біологічно активних речовин (Nepomnjashchih and Bakarev, 2009; Soubeyrand et al., 2014), які активізують процеси перебудови нейронів при ДГК.

Таким чином, міжмембранний вміст треба розглядати одночасно як інтегроване та інтегровальне середовище, через яке реалізуються гуморальні механізми об'єднання всіх складових елементів СМ в єдине ціле. Мембранні структури та міжмембранні проміжки являють єдиний комунікаційний канал, який забезпечує вибірково-двобічний транспорт речовин і впливає на рівень метаболічних процесів у нервовій тканині (Bagautdinov and Vasil'ev, 2005; Raimondo et al., 2011; Soubeyrand et al., 2013).

При ФНСАП у післягіпокінетичному періоді просторова організація та гісто-ультраструктура нейронів та їх ГМЦР зазнають значних змін. Вони лежать в основі збільшення інтенсивності їх кровопостачання та відображають глибоку трансформацію процесів метаболізму у реабілітаційному періоді експерименту (Ivanov, 2002; Nepomnjashchih and Bakarev, 2009). Це проявляється у значному згущенні кровоносного русла, зменшенні кількості плазматичних капілярів, відновленні рівномірності їх контурів і цілісності капілярних петель. Наші дані про збільшення загальної кількості гемокапілярів навколо окремих нейронів підтверджуються морфометричними показниками. Певні зміни гемокапілярів та їх взаємовідносин з навколишніми тканинами відбуваються на ультраструктурному рівні, свідчать про підвищення енергозабезпечення та білоксинтезувальної функції в нейронах (Ivanov, 2002; Nechipurenko et al., 2008; Popel, 2013), активізацію процесів транспорту речовин (Jerastova et al., 2001; Cach et al., 2014), а також про зниження перекисного окиснення ліпідів. Такі явища після 30-разового ФНСАП мають генералізований характер. Вони доповнюються відновленням структури міжнотеліальних контактів, що зумовлює поліпшення гемоциркуляції, зменшення явищ гіпоксії та спостерігається в інших органах і тканинах не тільки при ДГК, а й у відновному періоді у цілій низці патологічних процесів (Jerastova et al., 2001; Chugunov et al., 2009; Nepomnjashchih and Bakarev, 2009; Ciobica et al., 2010). Комплекс перерахованих змін лежить в основі структурного та функціонального впливу ФНСАП на складові гемато-неврального бар'єру (Mqjovski et al., 2009; Popel, 2013; Machovic et al., 2013).

Застосування 30-разового ФНСАП викликає зменшення дисхромічних форм нейронів. Морфологічні показники нейронів та їх ядер після ФНСАП статистично не відрізняються від таких у контрольній групі. В ЕГ гіпохромні деструктивно змінені нейрони складають менше 10,0%, а кількість гіперхромних клітин зменшується до 4,5% ($P < 0,05$), що свідчить про протекторну роль ФНСАП, яка виражається у підвищенні стійкості нейронів в умовах ДГК. У нейронах тварин ЕГ вміст РНК збільшується на 12,6% порівняно з ГП ($P < 0,05$).

Ряд авторів (Kamskova, 2001; Ivanov, 2002; Sazontova et al., 2007; Stogov, 2009) зазначають, що рухова активність суттєво впливає на білоксинтезувальні процеси у клітинах різних органів і тканин. Відновлення структури нейронів після ФНСАП зумовлює поліпшення нейрогістологічних показників, що свідчить про значну пластичність структур нервової системи при ФНСАП після ДГК (Raimondo et al., 2011; Rakowska et al., 2012; Sengul et al., 2015).

Висновки

1. У нейронах спинного мозку щурів після тривалої гіпокінезії розвиваються значні морфофункціональні зміни, які характеризуються появою значної кількості гіперхромних з ознаками деструктивних змін нейронів і «клітин-тіней», а також гіпохромних з ознаками деструктивних змін нейронів, зменшенням розмірів і зміною форми перикарионів нейронів та їх ядер.
2. Морфологічні зміни нейронів після тривалої гіпокінезії супроводжуються порушенням біосинтетичних процесів, про що свідчить зниження вмісту РНК у цитоплазмі еферентних нейронів спинного мозку щурів.
3. Фізичне навантаження середньої аеробної потужності викликає нормалізацію структурно-функціонального стану нейронів і сприяє посиленню репаративних процесів, що підтверджується позитивними змінами морфометричних показників.

Бібліографічні посилання

- Arciszewski, M.B., Wąsowicz, K., 2006. Neurochemical properties of the middle cervical ganglion in the sheep. *Ann. Anat.* 188(1), 75–83.
- Bagautdinov, I.R., Vasil'ev, J.G., 2005. Morfologija dvigateľnyh jader spinnogo mozga pri hronicheskoj gipokinezii [Morphology of motive kernels of spinal cord at chronic hypokinesia]. *Fundamental'nye Issledovanija* 5, 104–104 (in Russian).
- Breit, S., 2002. Functional adaptations of facet geometry in the canine thoracolumbar and lumbar spine (Th10-L6). *Ann. Anat.* 184(4), 379–385.
- Cash, W.J., O'Neill, S., O'Donnell, M.E., McCance, D.R., Young, I.S., McEneny, J., McDougall, N.I., Callender, M.E., 2014. Endothelial function, antioxidant status and vascular compliance in newly diagnosed HFE C282Y homozygotes. *Adv. Med. Sci.* 59(10), 28–33.
- Chugunov, A.V., Kamchatnov, P.R., Mihajlova, N.A., 2009. Korrekcija svobodnoradikal'nogo okislenija patogeneticheskij podhod k lecheniju ostrogo ishemicheskogo insulta [Correction of free radical oxidization is pathogenetic approach to treatment of sharp ischemic stroke]. *Zhurnal Nevrologii i Psihatrii* 10, 65–67 (in Russian).
- Ciobica, A., Hritcu, L., Padurariu, M., Dobrin, R., Bild, V., 2010. Effects of serotonin depletion on behavior and neuronal oxidative stress status in rat: Relevance for anxiety and affective disorders. *Adv. Med. Sci.* 55(2), 289–296.
- Dykman, L., Khlebtsov, N., 2012. Gold nanoparticles in biomedical applications: Recent advances and perspective. *Chem. Soc. Rev.* 41, 2256–2282.
- Ivanov, K.P., 2002. Voprosy stroenija i funkcii sistemy jenergosnabzhenija nejrona [Questions of structure and function of the system of energy supply of neuron]. *Kolosovskie Chtenija: Mater. IV Mezhdunar. Konf. po Funkcional'noj Nejromorfologii*. SPb., 44 (in Russian).
- Jerastova, E.R., Samarin, M.J., Birjukova, O.V., 2001. Morfofunkcional'nye izmenenija jelementov nervnoj i jendokrinoj sistem pri razlichnyh dvigateľnyh rezhimah [Morphofunctional changes of elements of the nervous and endocrine systems at different motive modes]. *Morfologija* 121, 187–190 (in Russian).
- Kamskova, Y.G., 2001. Changes in the antioxidant state and intensity of lipid peroxidation in the blood and liver during 30-day hypokinesia. *Bull. Exp. Biol. Med.* 132(10), 387–389.

- Levit'kiy, V.A., Popel, S.L., Zhurakivs'ka, O.J., 2014. Sposib viznachennja rivnja fizichnogo navantazhennja dlja shhuriv z eksperimental'nim strepozotocinovim diabetom [Method of determination of level of the physical loading for rats with experimental streptozocin diabetes]. Pat. 92278, Ukraïna. MKI A61 V 5/024; A61N 3/00 / – № 92278; Zajavl. 03.03.2014; Opubl. 11.08.2014, Bjul. 15, 5 (in Ukrainian).
- Mahovic, D., Zurak, N., Lakusic, N., Sporis, D., Zarkovic, N., Stancin, N., Bosnar-Puretic, M. 2013. The dynamics of soluble Fas/APO 1 apoptotic biochemical marker in acute ischemic stroke patients. *Adv. Med. Sci.* 58(2), 298–303.
- Majovski, L.V., Breiger, D., 2009. Development of higher brain functions: Birth through adolescence. In: *Handbook of Clinical Child Neuropsychology*. Springer Science + Business Media, LLC.
- Matsuzaki, F., Sampath, K., 2007. Wiring the nervous system: From form to function. *Development* 134, 1819–1822.
- Mickan, B.M., Popel, S.L., 2001. Nervovo-m'jazovij aparat i gipokinezija [Nerve-muscle vehicle and hypokinesia]. *Koncepcija Rozvitku Galuzi Fizichnogo Vihovannja i Sportu v Ukraini*. Prajt Hauz, Rivne 2, 148–151 (in Ukrainian).
- Narymbetova, T.M., Ormanbaev, K.S., Bajzakova, B.U., 2011. Gipokinezija i giperkinezija kak factory riska v jekstremal'nyh uslovijah [Hypokinesia and hyperkinesia as risk factors in extreme terms]. *Uspehi Sovremennogo Estestvoznanija* 5, 64–66 (in Russian).
- Nechipurenko, N.I., Pashkovskaja, I.D., Musienko J.I., 2008. Osnovnye patofiziologicheskie mehanizmy ishemii spinogo mozga [Basic patophysiological mechanisms of ischemia of spinal cord]. *Medicinskie Novosti* 1, 713–716 (in Russian).
- Nepomnjashchih, L.M., Bakarev, M.A., 2009. Morfogenez metabolicheskikh povrezhdenij skeletnyh myshc: Strategija ogranichenija povrezhdenija [Morfogenez of metabolic damages of skeletal muscles: Strategy of limitation of damage]. *Vestnik Rossijskoj Akademii Medicinskih Nauk* 7, 13–19 (in Russian).
- Poľubińska, A., Staniszewski, R., Baum, E., Sumińska-Jasińska, K., Bręborowicz, A., 2013. Sulodexide modifies intravascular homeostasis what affects function of the endothelium. *Adv. Med. Sci.* 58(2), 304–310.
- Popel, S.L., 2013. Changeability of neurons of spinal cord of rats of a different age in norm. *European Applied Sciences* 3(1), 14–16.
- Popel, S.L., 2013. Budova mikroциркуляторного rusla okremih elementiv prostoї reflektornoї dugi pri obmezheni ruhovoi aktivnosti [Structure of microcirculatory network of separate elements of simple reflex arc at limitation of motive activity]. *Visnik Morfologii*. Vinnicja 19(1), 10–15 (in Ukrainian).
- Popel, S.L., Mickan, B.M., 2013. Trivalist', ob'yem ta intensivnist' fizichnih navantazhen' pislja dii dovgotrivaloї gipokinezij [Duration, volume and intensity of the physical loadings after action of of long duration hypokinesia]. *A.s.* 49326, Ukraine. MKI A61 V 5/024 / . – № 49326; Zajavl. 20.12.2012; Opubl. 27.05.13, Bjul. 12, 4 (in Ukrainian).
- Rakowska, A., Rudnicka, L., Olszewska, M., Kurzeja, M., 2012. *Blood Vessels*. Springer-Verlag, London.
- Raimondo, S., Fornaro, M, Tos, P., Battiston, B., Giacobini-Robecchi, M.G., Geuna, S., 2011. Perspectives in regeneration and tissue engineering of peripheral nerves. *Ann. Anat.* 193(4), 334–340.
- Rebrova, O.J., 2006. Statisticheskij analiz medicinskih dannyh. Primenenie paketa prikladnyh programm Statistica [Statistical medical data analysis. Application of the Statistica application package]. *MediaSfera*, Moscow (in Russian).
- Rusu, M.C., Pop, F., Hostiu, S., Dermengiu, D., Lală, A.I., Ion, D.A., Mănoiu, V.S., Mirancea, N., 2011. The human trigeminal ganglion: C-kit positive neurons and interstitial cells. *Ann. Anat.* 193(5), 403–411.
- Sazontova, T.G., Anchishkina, N.A., Archipenko, Y.V., 2007. Induction of HSPs and antioxidant defense enzymes during activation of free radical oxidation at the early stage of hypokinesia. *Bull. Exp. Biol. Med.* 143(4), 378–382.
- Shvaley, V.N., Sosunov, A.A., Majorov, V.N., 2001. Nervnaja tkan' i nejroglia [Nervous fabric and neuroglia]. *SpecLit*, SPb (in Russian).
- Sengul, G., 2015. Peripheral nervous system spinal cord cyto- and chemoarchitecture. In: *The rat nervous system (Fourth Ed.)*. G. Paxinos (Ed.). Section II, 87–95.
- Sies, H., 2015. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology* 4, 180–183.
- Smirnov, A.V., Chernov, D.A., Ivanauskene, N.J., 2000. Izmenenie struktury perifericheskikh otdelov nervnoj i jendokrinnoj sistem rastushhego organizma pod vlijaniem gipodinamii i gipokinezii [The change of structure of peripheral departments of the nervous and endocrine systems of growing organism under influencing is hypodinamia and hypokinesia]. *Morfologija* 117(3), 112–115 (in Russian).
- Smirnov, J.I., Smirnova, Z.D., Efranova, V.V., 2000. Vozrastajushhaja gipodinamija v sovremennom obshhestve – opasnyj nedug podrastajushhego pokolenija [Increasing hypodinamia in modern society is the dangerous ailment of rising generation]. *Fizicheskaja kul'tura i sport v zhizni obshhestva: Mater. Mezhdunar. Nauch. Prakt. Konf. Cheljabinsk*, 92–94 (in Russian).
- Soubeyrand, M., Laemmel, E., Court, C., Dubory, A., Vicaut, E., Duranteau, J., 2013. Rat model of spinal cord injury preserving dura mater integrity and allowing measurements of cerebrospinal fluid pressure and spinal cord blood flow. *Eur. Spine J.* 22, 632–635.
- Soubeyrand, M., Dubory, A., Laemmel, E., Court, C., Vicaut, E., Duranteau, J., 2014. Effect of norepinephrine on spinal cord blood flow and parenchymal hemorrhage size in acute-phase experimental spinal cord injury. *Eur. Spine J.* 23, 358–365.
- Stogov, M.V., 2009. Creatine metabolism in skeletal muscles during hypokinesia. *Bull. Exp. Biol. Med.* 148(7), 34–36.
- Udina, E., Cobianchi, S., Allodi, I., Navarro, X., 2011. Effects of activity-dependent strategies on regeneration and plasticity after peripheral nerve injuries. *Ann. Anat.* 193(4), 347–353.
- Victorov, I.V., Prass, K., Dirnagl, U., 2000. Improved selective, simple, and contrast staining of acidophilic neurons with vanadium acid fuchsin. *Brain Res. Protoc.* 5, 135–139.
- Wielgat, P., Braszko, J.J., 2012. Significance of the cell adhesion molecules and sialic acid in neurodegeneration. *Adv. Med. Sci.* 57(1), 23–30.
- Willis, C.L., 2011. Glia-induced reversible disruption of blood-brain barrier integrity and neuropathological response of the neurovascular unit. *Toxicol. Pathol.* 39(1), 172–185.
- Wu, S., Wum, Y., Capecchi, M.R., 2006. Motoneurons and oligodendrocytes are sequentially generated from neural stem cells but do not appear to share common lineage – restricted progenitors in vivo. *Development* 133(4), 581–590.
- Zhabotinskij, J.M., 1965. Normal'naja i patologicheskaja morfologija nejrona [Normal and pathological morphology of neuron]. *Medicina*, Leningrad (in Russian).

Надійшла до редколегії 21.01.2015