

Компенсаторно-адаптивные изменения мозжечка при гипокинезии

*М.А. Рожнецв, аспирант, А.А. Рожнецв, аспирант,
С.А. Лобанов, д.м.н. профессор,
ФГБОУ ВО Башкирский ГПУ*

В Большой медицинской энциклопедии термин «гипокинезия» рассматривается в двух аспектах: во-первых, как симптом поражения пирамидальной системы, который проявляется в понижении двигательной активности; во-вторых, ограничение подвижности, которое может быть вызвано образом жизни, условиями трудовой деятельности, а также ввиду различных заболеваний.

Экспериментальные исследования в трудах учёных показывают, что длительное отсутствие двигательной активности или её недостаток приводят к значительным изменениям в состоянии центральной нервной системы [1–4, 11].

Исследованиями доказывается, что действие гипокинезии как экстремального фактора вызывает функциональное расстройство, вплоть до деструктивных изменений. Кроме того, прослеживаются явления тесной взаимосвязи структуры нейронов и клеток глии при действии таких факторов [5–8, 12].

Целью нашего исследования является выявление компенсаторно-адаптивных изменений мозжечка при гипокинезии.

Мы рассматриваем гипокинезию в аспекте ограничения подвижности, которое может быть вызвано различными факторами. В работе нами была использована модель гипокинезии, предложенная Е.А. Коваленко [9].

Материал и методы исследования. Изучение компенсаторно-адаптивных изменений мозжечка при гипокинезии проводилось на крысах породы VISTAR. Все особи были половозрелого возраста с массой тела $220 \pm 10,5$ г.

Все животные, участвующие в эксперименте, были поделены на четыре группы: I гр. (12 крыс) – контрольная; во II гр. (12 крыс) проводилось моделирование гипокинезии путём помещения крыс в пеналы, ограничивающие их движение на весь период эксперимента; в III гр. (12 крыс) применялись среднемолекулярные протеогликианы в виде 12,5-процентного раствора, вводимого внутривентриально в количестве 0,5 мл (контроль для IV гр.); в IV гр. (12 крыс) проводили моделирование

гипокинезии плюс через фиксированные промежутки времени вводились среднелекулярные протеогликаны, в виде 12,5-процентного раствора внутривентриально в количестве 0,5 мл.

Крысы, находящиеся в эксперименте, подвергались ежедневному контролю в течение первых 7 сут., затем через каждые 2–3 сут. Исследование проводили в течение 30 сут.

Животные выводились из эксперимента на 1-, 7-, 14- и 30-е сутки. Учитывалось гуманное отношение к животным, с этой целью при проведении эксперимента использовалась передозировка наркоза.

Все животные, входящие в группу контроля и экспериментальную группу, содержались в стандартных условиях вивария – с одинаковой температурой, влажностью, освещённостью и имели свободный доступ к воде и пище (приказ Минздрава СССР № 755 от 12 августа 1977 г., приказ Минздрава СССР № 1509 от 30 декабря 1983 г., Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434–2009, приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 № 267).

Для изучения морфофункциональных и ультраструктурных изменений клеток мозжечка лабораторных крыс породы VISTAR проводилось комплексное исследование с использованием электронной микроскопии. Это позволило выявить особенности динамики внутриклеточных структур нейронов коры мозжечка.

Для проведения электронно-микроскопического исследования забирался материал небольшого объёма (1×1 мм). Весь биологический материал подвергался фиксации в 2,5-процентном растворе глутарового альдегида, подготовленном на фосфатном буфере. Этот буфер имел pH 7,2–7,4. После этого материал промывался фосфатным буфером и помещался для следующего этапа фиксации в 1-процентном растворе четырёхокси осмия (OsO₄). Весь материал в растворе четырёхокси осмия находился в течение не менее 1 часа (в холодильнике). Далее биологические образцы помещались в колонку спиртов для обезвоживания. Колонка спиртов состояла из растворов возрастающей концентрации (от 50- до 96-процентного спирта). Все образцы в последующем помещались в ацетон (3 порции). Экспериментальный материал – мозжечок крыс подвергали заливке смолой ЭПОН-812.

Для изучения ультраструктуры мозжечка использовался метод полутонких срезов с достижением толщины около 0,1–0,5 микрон и ультратонкие срезы (толщина около 500–700 ангстрем). Срезы готовились на ультратоме LKB-III. Эти срезы окрашивались метиленовой синью или толуидиновой синью, что позволило выявить внутриклеточные структуры и провести ориентацию правильного расположения образца. Эти срезы в дальнейшем подвергались контрастированию уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу [10]. Затем срезы

помещались на специальные сетки для исследований на электронном микроскопе JEM-100S.

Статистическая и графическая обработка полученных результатов проводилась с использованием операционной системы Windows 8 с помощью пакета офисных приложений Microsoft Office 2010.

Результаты исследования. Электронная микроскопия показывает, что нейроны коры мозжечка имеют чётко выраженную мембранную структуру (рис. 1). Эти мембранные структуры хорошо выявляются во всех внутриклеточных элементах. В нейронах достаточно хорошо развиты и сформированы такие мембранные образования, как комплекс Гольджи и эндоплазматический ретикулум. Комплекс Гольджи располагался около ядра в месте его инвагинации. Комплекс Гольджи представлен мембранными структурами, имеющими пластинчатый вид. В комплексе Гольджи выявляются везикулярные структуры разного характера. Эти образования неоднородные по своей электронной плотности. Среди них встречаются везикулы высокой электронной плотности, что связано с повышением их осмиофильности.

В районе комплекса Гольджи наблюдаются везикулы, имеющие окаймлённый вид, небольшого размера. Внутри этих везикул выявляется электронный плотный материал. Эти везикулы располагаются не только около цистерн комплекса Гольджи, но и рядом с эндоплазматическим ретикулумом.

Таким образом, при изучении морфоструктурных особенностей мозжечка в норме нами выявлен ряд особенностей. К этим особенностям можно отнести ядерно-цитоплазматические соотношения, хорошо развитый эндоплазматический ретикулум, как гладкий, так и шероховатый, выраженный комплекс Гольджи, и высокое содержание рибосомального аппарата. Эти особенности указывают на высокую интенсивность процессов ядерного синтеза РНК и синтеза белковых молекул, требующих высоких

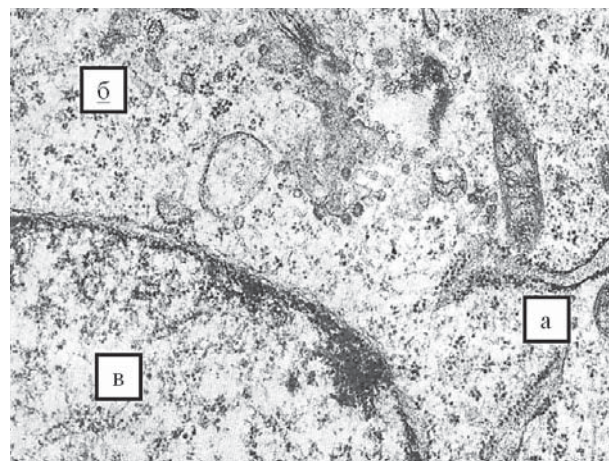


Рис. 1 – Мозжечок крысы в норме:
а – ЭПР; б – полисомы; в – ядро с гетерохроматином. Увеличение ×31000

расходов энергии. Все эти процессы в первую очередь направлены на обеспечение собственных нужд нейронов. На основе этого можно отметить, что в этих клетках преобладает интрацеллюлярный обмен веществ.

Моделируемая нами гипокинезия, действующая на животных, вызывала ультраструктурные изменения нейронов мозжечка (рис. 2).

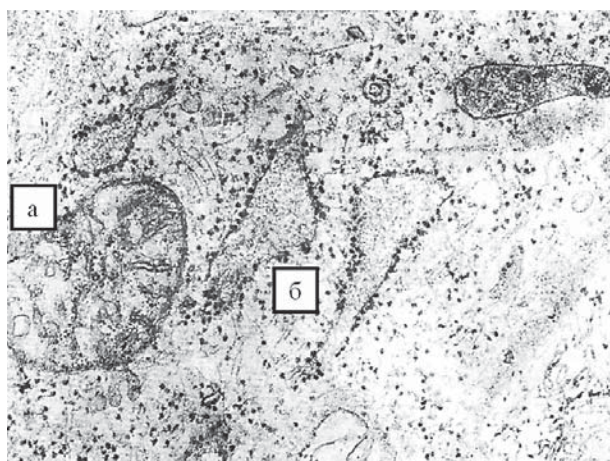


Рис. 2 – Ультраструктурные особенности ткани мозжечка крысы при гипокинезии (14-е сутки): а – митохондрия; б – расширенные фрагменты ЭПР. Увеличение $\times 37000$

Для этих нейронов было характерно усиление рисунка клеточной мембраны. На её поверхности располагался слабоокрашенный мелкозернистый материал, имеющий низкую электронную плотность.

Длительная гипокинезия, проводимая нами в течение 30 суток, вызывала существенные структурно-функциональные изменения как в нейронах, так и в клетках глии мозжечка. Нейроны, расположенные в коре мозжечка, характеризовались изменениями со стороны энергообразующих структур и синтетического аппарата.

Таким образом, при действии гипокинезии изменяется реакция внутриклеточных элементов нейронов и клеток глии. Данные ультраструктурные изменения нейронов мозжечка находятся в устойчивой зависимости от продолжительности действия гипокинезии (табл.).

Следует также отметить снижение осьмиофильности клеточных мембран, ЭПР и содержимого гликокаликса. Данные этих исследований нами рассматриваются как один из механизмов компенсаторно-адаптивных изменений.

Изучение клеточного состава с использованием электронной микроскопии позволило выявить особенности ультраструктурных изменений нейронов при введении среднемолекулярных протеогликанов (рис. 3).

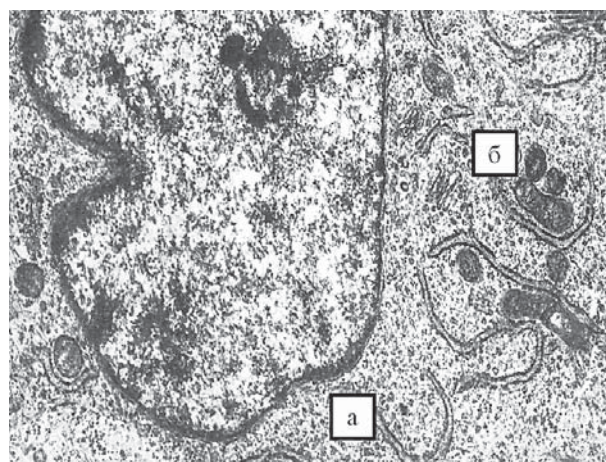


Рис. 3 – Ультраструктурные особенности ткани мозжечка крысы при введении протеогликанов (30-е сутки): а – фрагменты ЭПР; б – митохондрии. Увеличение $\times 31000$

Нейроны на фоне введения протеогликанов различаются между собой по ультраструктурным признакам своего интра- и экстрацеллюлярного обмена. Клетки характеризуются интенсификацией синтетической деятельности и секреторных процессов, осуществляемых комплексом Гольджи и эндоплазматическим ретикуломом. Эти процессы тесно связаны с выявлением, как в цитоплазме, так и на наружной поверхности клетки, мелкозернистого, хлопьевидного и тонкофибриллярного материала, идущего на построение белковых структур и собственных протеогликанов. Все эти процессы требуют высоких энергозатрат, тесно связанных с активацией деятельности их митохондрий.

В условиях коррекции морфоструктурных изменений, происходящих в нейронах мозжечка при гипокинезии, позволили выявить некоторые их особенности (рис. 4).

В этот период наблюдалась относительно хорошая сохранность структуры клеточной мембраны. В перичеллюлярных зонах и на самой клеточной мембране выявлялся разный по характеру материал, имеющий среднюю электронную плотность. В этих участках в основном встречался мелкозернистый и хлопьевидный материал. В некоторых участках

Соотношение внутриклеточных структур нейронов мозжечка у крыс при гипокинезии, %

Показатель	Контроль	1-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	30-е сутки
Митохондрии	15,6	19,1	18,3	16,7	12,5
Комплекс Гольджи	21,7	24,1	25,5	22,1	19,6
Эндоплазматический ретикулум	27,4	33,2	31,7	29,3	39,2

в небольшом количестве различался тонкофибриллярный компонент, расположенный рядом с хлопьевидным.

Гипокинезия на фоне проводимой коррекции оказывала влияние на комплекс Гольджи и эндоплазматический ретикулум. В этих условиях изменялась их деятельность и секреция образующихся в них различных соединений.

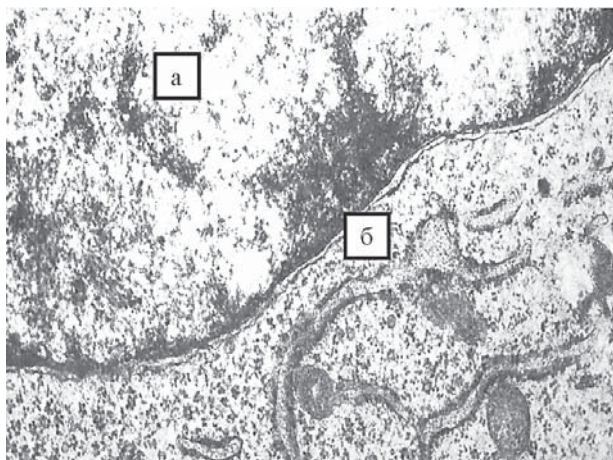


Рис. 4 – Ультраструктурные особенности ткани мозжечка крысы при гипокинезии + коррекция (30-е сутки): а – расположение гетерохроматина; б – ЭПР. Увеличение $\times 28000$

Следует также отметить, что происходит изменение соотношения синтеза и выведения высокомолекулярных соединений: типа белково-липидных комплексов и белково-полисахаридных соединений.

Выводы. В ходе экспериментальной работы по моделированию гипокинезии нами было выявлено изменение ультраструктуры клеток и её состава. Данные ультраструктурные изменения нейронов мозжечка находятся в устойчивой зависимости от продолжительности действия гипокинезии.

Электронно-микроскопическими методами отмечалось снижение осьюофильности клеточных мембран, содержимого гликокаликса. Комплексные исследования позволили нам выявить, что в условиях гипокинезии первоначально прослеживаются функциональные расстройства, затем идут структурные перестройки. В части нейронов прослеживались явления апатоза, что проявлялось уменьшением количества нервных клеток. При этом происходили изменения не только в нейронах, но и в окружающем перицеллюлярном матриксе.

Также были выявлены особенности функционирования белок синтезирующего аппарата. При этом прослеживалось уменьшение содержания рибосом на мембранах эндоплазматического ретикулума. В самом эндоплазматическом ретикулуме наблюдалось просветление матрикса, что выявлялось в разные сроки эксперимента. Данные этих исследований нами рассматриваются как один из механизмов адаптивных проявлений.

Электронно-микроскопические исследования, проводимые на этапе моделирования гипокинезии с коррекцией протеогликанами, позволяют отметить изменения соотношения синтеза и выведения высокомолекулярных соединений (типа белково-липидных комплексов и белково-полисахаридных соединений). Гипокинезия на фоне проводимой коррекции оказывала влияние на комплекс Гольджи и эндоплазматический ретикулум. В этих условиях изменялась их деятельность и секреция, образующаяся в них различных соединений.

Литература

1. Ганченкова Т.П., Кривохижина Л.В. Эффективность различных методов коррекции гипокинезии // Актуальные вопросы практической и теоретической медицины. Челябинск, 1997. С. 72–73.
2. Емелева Т.Ф., Лобанов С.А. Ультраструктурные особенности мозжечка при гипокинезии // Матер. Всерос. науч.-практич. конф. с междунар. участ. Уфа: БГПУ. 2004. С. 28–31.
3. Ипастова, И.Д. Макро- и микроморфология головного мозга и мозжечка белой крысы // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2014. № 4 (32). С. 30–35.
4. Манина А. А. Ультраструктура и цитохимия нервной системы: (атлас). М.: Медицина, 1978. 239 с.
5. Зимницкий А.Н., Башкатов С.А. Гликозаминогликаны в биохимических механизмах адаптации организма к некоторым физиологическим и патологическим состояниям. М.: Фармацевтический бюллетень, 2004. 235 с.
6. Камскова Ю.Г. Влияние долговременной гипокинезии на физиологические механизмы стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем: автореф. дисс. ... докт. мед. наук: 14.01.04. Тюмень, 2004. 45 с.
7. Козочкин Д.А. Соотношение между липопероксидацией и окислением белков в крови и головном мозге в динамике тридцатисуточной гипокинезии / Д.А. Козочкин, А.И. Синицкий, Д.А. Романов [и др.] // Омский научный вестник. Серия «Ресурсы земли. Человек». 2011. № 1 (104). С. 102–104.
8. Парин В.В., Фёдоров Б.М. О механизмах изменения реактивности организма при гипокинезии // Авиационная медицина и космическая медицина. М.: Б.И., 1969. Т. 2. С. 116–118.
9. Коваленко Е. А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. М.: Медицина, 1980. 320 с.
10. Лобанов С.А., Емелева Т.Ф. Мозжечок и стресс (экспериментальное исследование): монография. Уфа: Вагант, 2005. 112 с.
11. Barmack, N. H. Functions of interneurons in mouse cerebellum / N. H. Barmack, V. Yakhnitsa // J. Neurosci. 2008. Vol. 28 (5). P. 1140–1152.
12. Kim, J. Electrophysiological, morphological, and topological properties of two histochemically distinct subpopulations of cerebellar unipolar brush cells / J. Kim, G. Sekerkova, E. Mugnaini [et al.] // Cerebellum. 2012. Vol. 11 (4). P. 1012–1025.