

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

МИЦКАН Богдан Михайлович

**ВПЛИВ ГПОКІНЕЗІЇ І РУХОВОЇ АКТИВНОСТІ
НА РІСТ І ДИФЕРЕНЦІАЦІЮ
СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ**

03.00.11 — ембріологія, гістологія і цитологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ — 1997



00751837 (V)

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі нормальної анатомії людини
Івано-Франківської державної медичної академії.

Науковий консультант: Заслужений діяч науки і техніки
України, доктор медичних наук,
професор ШУТКА Богдан Васильович.

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Новак Віталій Петрович
доктор медичних наук, професор
Черкасов Віктор Гаврилович
доктор біологічних наук, с.н.с.
Щегольков Олександр Миколайович

Провідна організація: Тернопільський державний медичний
інститут ім.І.Я.Горбачевського.

Захист дисертації відбудеться «18» березня 1997
р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради
Д.01.01.13 Київського університету імені Тараса Шевченка за
адресою: вул. Глушкова, 2, Науково-дослідний інститут
фізіології Київського університету імені Тараса Шевченка.

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Київського
університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, вул.
Володимирська, 58. Відгуки надсилати за адресою: 252033,
м.Київ-33, вул. Володимирська, 60. Спецрада Д.01.01.13.

Автореферат розісланий «18» лютого 1997 року.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради Д.01.01.13 кандидат біологічних наук
Г.В.Островська

Загальна характеристика роботи

Актуальність проблеми. Потреба в руховій активності — одна з загальнобіологічних особливостей організму, яка відіграє важливу роль в його розвитку і життєдіяльності (Никитюк Б.А. і соавт., 1987).

В ранньому постнатальному онтогенезі тварин і людей вона визначає нормальний ріст і розвиток організму, сприяє найбільш повній реалізації генетичного потенціалу, становленню і формуванню вегетативних функцій (Аршавский І.А., 1969; Могендович М.Р., 1972; Никитюк Б.А., Коган Б.И., 1989). На основі проведених досліджень було встановлено, що розвиток скелетних м'язів є суттєвим негентропійним фактором, який поступово збільшує енергетичні ресурси організму і, як наслідок, — його робочі можливості. При цьому, чим інтенсивніша рухова активність в межах допустимого оптимуму, тим більш виражені основні негентропійні фактори, які збільшують енергетичні ресурси, необхідні для росту та розвитку організму. І навпаки, обмеження рухової активності (гіпокінезія) веде до гальмування росту організму, викликає цілий комплекс біохімічних і структурно-функціональних змін у всіх органах і системах, які W. Raab (1961) запропонував об'єднати під терміном "гіпокінетична недуга". Зокрема, в цих умовах різко зменшується функція скелетної мускулатури, що призводить до її атрофії та деструктивних змін м'язових волокон (Португалов В.В., Рохленко К.А., 1968; Букаева І.А., 1970; Коваленко Е.А., Гуровский Н.И., 1980; Ильина-Какуева Е.И., Португалов В.В., 1981; Поздняков О.М. і соавт., 1988; Vokogasi N. et al., 1990; Щегольков А.Н., 1990; Virtanen P. et al., 1991).

Як правило, зміни, які виникають при дефіциті рухової активності, не обмежуються тільки скелетною мускулатурою, а розповсюджуються на інші тканинні і органні системи. Зі станом гіпокінезії пов'язано виникнення деструктивних процесів в нервовій та серцево-судинній системах (Куприянов В.В. і соавт., 1974; Ильина-Какуева Е.И., Португалов В.В., 1977; Fahim M., 1989), порушення різних форм обміну (Федоров І.В., 1984).

Паралельно з вивченням патогенетичного впливу гіпокінезії на організм рядом авторів (Георгиевский і соавт., 1979; Hauschka E. et al., 1988; Gollnick et al., 1990) зроблені спроби пошуку ефективних засобів первинної і вторинної профілактики синдрому гіпокінезії. Є всі підстави одним з таких засобів вважати дозовані фізичні навантаження (Кавешников В.Г. і соавт., 1980; Самойлов Н.Г., 1988).

Не дивлячись на велику кількість досліджень по вивченню впливу гіпокінезії на різні органи і системи, сьогодні ще не з'ясовано, як вона впливає на ріст і диференціацію основних

фенотипів м'язових волокон (МВ), аксом'язових синапсів і нервово-м'язових веретен, формування мікрогемодикуляторного русла скелетних м'язів в ранньому постнатальному онтогенезі.

Відсутні обґрунтовані дані щодо механізму запуску дисфункціональної атрофії і міодистрофічних процесів в скелетних м'язах.

Наявні дослідження не розкривають протекторний вплив фізичних навантажень проти гіпокінетичного синдрому та особливостей розвитку скелетних м'язів в рекреаційному періоді після довготривалої гіпокінезії.

Мета дослідження. Вивчити динаміку ультраструктурних і цитохімічних змін основних фенотипів МВ, аксом'язових синапсів, нервово-м'язових веретен і мікрогемодикуляторного русла скелетних м'язів в умовах довготривалої гіпокінезії на ранньому етапі постнатального онтогенезу і дати обґрунтування використання фізичних навантажень як протекторного і рекреаційного засобу проти патогенетичного впливу гіпокінезії.

Конкретними завданнями дослідження були:

1. Тканинна і ультраструктурна характеристика організації скелетних м'язів білих шурів.

2. Вивчити особливості росту експериментальних тварин скелетних м'язів і серця в умовах довготривалої гіпокінезії (30-300 діб).

3. Вивчити вплив гіпокінезії на ріст і диференціацію основних фенотипів МВ, аксом'язових синапсів, нервово-м'язових веретен і мікроциркуляторного русла в ранньому постнатальному онтогенезі.

4. Вивчити динаміку змін активності ЛДГ і її ізоферментного спектру та вмісту ліпідів в м'язовій тканині при гіпокінезії.

5. Оцінити адаптогенні властивості скелетних м'язів і їх нервово-судинного апарату тренуваних тварин при обмеженні рухової активності.

6. Дати оцінку ефективності різних рівнів рухової активності для відновлення росту скелетних м'язів після довготривалої іммобілізації.

Наукова новизна дослідження. Методи світлооптичної і електронної мікроскопії, гісто- і біохімічного аналізу, морфо- і стереометрії та комплексне дослідження міогенних і нервово-судинних компонентів скелетних м'язів дозволили охарактеризувати ріст, диференціацію і фізіологічну регенерацію м'язової тканини з позицій тісної єдності симпластичних (м'язові волокна) і клітинних (міосателітоцити) утворень в постнатальному онтогенезі. Отримані дані свідчать про те, що наростання маси м'язової тканини в постнатальному онтогенезі проходить не за рахунок збільшення кількості МВ, а завдяки зростанню їх

діаметру, шляхом гіперплазії і гіпертрофії міофібрил.

Вперше дана ультраструктурна характеристика популяції міосателітоцитів в постнатальному онтогенезі і описані їх структурно-функціональні взаємовідношення з МВ і гемокапілярами.

Отримані нові дані про ультраструктурні основи екзоцитозу ацетилхоліну в аксом'язових синапсах різних фенотипів МВ, мікрівіброгемонасосної функції МВ і функціонування нервово-м'язових веретен.

Вперше встановлено, що тривала гіпокінезія в період інтенсивного розвитку викликає повну зупинку росту організму, розвитку скелетних м'язів і серця. В цих умовах послаблюється нервово-трофічний вплив на МВ в результаті деструкції структурних основ екзоцитозу прогностичних нейротрофінів і мікроциркуляції крові, який супроводжується дедиференціацією (структурно-адаптаційна реакція) МВ. Остання при великих термінах гіпокінезії (300 діб) переходить в деструктивний процес і завершується розпадом МВ. Першопричиною переходу м'язових волокон в пластичний стан при гіпокінезії є структурно-функціональна перебудова нервово-м'язових веретен, яка спотворює аферентний потік імпульсів.

Показано, що важливою ланкою в розвитку деструкції скорочувального апарату є переключення м'язової тканини з вуглеводного обміну на жировий і активація перекисного окислення ліпідів.

Вперше показано, що гальмівний ефект гіпокінезії на ріст тварин, розвиток і диференціацію скелетних м'язів є зворотним при умові відновлення рухової активності. При цьому субмаксимальні фізичні навантаження прискорюють реалізацію генетичної програми росту і диференціації скелетних м'язів, забезпечують відновлення і нагромадження структурно-функціонального потенціалу міогенних і нервово-судинних компонентів.

Вперше показано, що фізичні навантаження тренувального характеру мають протекторну дію щодо гальмівного впливу гіпокінезії на ріст і диференціацію скелетних м'язів.

Вперше підтверджено гіпотезу дисконтинуїтету — формування клітинної бази м'язової тканини (міосателітоцитів) з неклітинної (міосимпластичної) фази при переході МВ в пластичний стан в умовах фізичних навантажень і гіпокінезії.

Науково-практична цінність. Дослідження розкриває уявлення про механізм росту і диференціації м'язових волокон і приводить до висновку, що міосателітоцити є поліфункціональними клітинами і знаходяться в тісній структурно-функціональній єдності з МВ в постнатальному онтогенезі.

Результати експериментів по вивченню впливу гіпокінезії можуть бути використані для розробки загальної теорії пато-

генезу гіпокінезії.

Отримані дані щодо впливу фізичних навантажень на адаптацію скелетних м'язів до гіпокінезії та реабілітацію їх розвитку в рекреаційному періоді можуть послужити вихідною базою для розробки програм профілактики гіпокінетичного синдрому у представників різних професій, а також для розробки методів реабілітації після тривалого обмеження рухової активності і невагомості з допомогою фізичних навантажень.

Результати ультраструктурного дослідження пластичності м'язових волокон, аксом'язових синапсів, нервово-м'язових веретен і мікроциркуляторного русла можуть бути використані для уточнення теорії міогістогенезу, репаративної і фізіологічної регенерації, а також для пошуку засобів лікування міодистрофій і стимулювання посттравматичної регенерації м'язової тканини.

Положення, які виносяться на захист.

1. Ріст і диференціація скелетних м'язів в ранньому постнатальному онтогенезі проходить в тісній єдності симпластичних і клітинних утворень, а наростання м'язової маси відбувається за рахунок гіперплазії і гіпертрофії міофібрил.

2. Гіпокінезія в перші місяці постнатального розвитку викликає повну затримку росту організму, розвитку і диференціації скелетних м'язів. При цьому гальмівний ефект зменшується, якщо на попередньому етапі тварини отримували фізичні навантаження тренувального характеру.

3. Репресивний вплив гіпокінезії на розвиток і диференціацію скелетних м'язів є зворотнім при умові відновлення рухової активності. Відновлюючі процеси прискорюються за умов застосування субмаксимальних фізичних навантажень.

4. При переході м'язових волокон в пластичний стан в умовах фізичних навантажень і гіпокінезії включається механізм формування клітинної бази (МСЦ) міогенної тканини із структурних елементів міосимпласту.

Апробація роботи. Основні результати дисертації докладені на засіданнях Івано-Франківського обласного товариства анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів (1992-1994 рр.), на IV Всесоюзній школі по біології м'язів (Москва, 1986), на Всесоюзній конференції "Проблеми морфології тварин в умовах промислового тваринництва" (Ульяновськ, 1987), Обласній конференції "Застосування електронної мікроскопії в медицині" (Івано-Франківськ, 1989), Всесоюзному симпозіумі "Структурно-енергетичне забезпечення механічної роботи м'язів" (Москва, 1990), Всесоюзній конференції "Структурно-функціональні одиниці і їх компоненти в органах вісцеральних систем в нормі і патології" (Харків, 1991), Всесоюзному симпозіумі "Експериментальні та клінічні аспекти медичної та спортивної антропології"

(Тернопіль, 1991), II Регіональній конференції "Роль фізичної культури в здоровому способі життя" (Львів, 1991), XI з'їзді анатомів, гістологів і ембріологів (Смоленськ, 1991), Всесоюзній школі "Біологія опорно-рухового апарату" (Харків, 1991), I Всеукраїнській конференції "Здоров'я і освіта" (Львів, 1993), I Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України (Івано-Франківськ, 1994), Міжнародному конгресі з інтегративної антропології (Тернопіль, 1995).

Особистий внесок пошуковця. Пошукачем самостійно здійснена постановка експериментів, проведені гістологічні, гістохімічні, електронномікроскопічні, біохімічні та морфо- і стереометричні дослідження, статистична обробка отриманих цифрових даних. Літературна редакція, формування висновків, теоретичних і практичних рекомендацій, оформлення роботи виконані самим автором.

Публікації. Основні результати дисертаційного дослідження опубліковані в 26 наукових працях (18 статтях і 8 тезах), 11 з яких є самостійними.

Впровадження результатів наукових досліджень. Матеріали дисертації впроваджені в учбовий процес на кафедрах нормальної анатомії, гістології, ендокринології з курсом лікувальної фізичної культури і фізичного виховання Івано-Франківської медичної академії, на кафедрах гістології і нормальної анатомії Тернопільського медичного інституту, на кафедрі дошкільного виховання і охорони здоров'я дітей Прикарпатського університету ім. В. Стефаника.

Об'єм і структура дисертації. Зміст дисертації викладений на 226 сторінках машинописного тексту і складається із вступу, 13 розділів та висновків. Ілюстративний матеріал подано у вигляді 41 таблиці і 209 рисунків. Список літератури містить 379 джерел, з них 207 вітчизняних та 172 іноземних.

Матеріал та методи дослідження

Об'єктом дослідження служили скелетні м'язи (прямий стегна, камбалоподібний, литковий) і серце безпородних щурів-самців віком від 30 до 360 діб. Дані про проведені експерименти, вік і розподіл тварин по групах представлені в табл. 1.

Рухову активність обмежували в індивідуальних клітках-пеналах (Коваленко Е.А., Гуровський Н.Н., 1980) у приміщенні з температурою повітря 28,5°C і його одноразовим обміном протягом 2 годин. З метою вивчення впливу фізичних тренувань на ріст тварин і розвиток скелетних м'язів в умовах гіпокінезії тварини з 30 до 60 діб постнатального розвитку отримували щоденні фізичні навантаження (біг в трьохмілі оригінальної конструкції, раціоналізаторська пропозиція № 1086, визнана

Таблиця 1.

Дані про проведені експерименти і
кількість використаних тварин

№ п/п	Назва експерименту	Вік тварин в добах		Кількість тварин		Всього
		Перед по- чатком екс- перименту	Після заве- ршення екс- перименту	Конт- роль	Дослід	
1	Гіпокінезія 30 діб	60	90	10	30	40
2	Гіпокінезія 60 діб	60	120	10	30	40
3	Гіпокінезія 90 діб	60	150	10	30	40
4	Гіпокінезія 120 діб	60	180	10	30	40
5	Гіпокінезія 300 діб	60	360	10	30	40
6	Гіпокінезія 30 діб після фізичних тренувань	30	90	—	20	20
7	Гіпокінезія 60 діб після фізичних тренувань	30	120	—	20	20
8	Реабілітація тварин після 60 добової гіпо- кінезії в умовах зви- чайної рухової актив- ності протягом					
	15 діб	60	135	10	10	20
	30 діб	60	150	10	10	20
9	Реабілітація тварин після 60 діб гіпокіне- зії з допомогою фі- зичних навантажень протягом					
	15 діб	60	135	—	10	10
	30 діб	60	150	—	10	10
10	Фізичне тренування протягом 30 діб	60	180	—	10	10
		60	90	—	10	10
Всього						340

МОЗ УРСР 16.04.1990 р.). Об'єм фізичних навантажень складав від 150 м (1-3 день) до 900 м (28-30 день) при швидкості бігу 15-35 м/хв, при куті нахилу бігової доріжки від 0 до +7 градусів та інтервалами відпочинку 2-3 хв після 5-7 хв бігу. По завершенню тренувального циклу тварин розділяли на контрольну і піддослідну групи. Останні зазнавали обмеження рухової активності впродовж 30 і 60 діб.

В третій серії дослідів проводили реабілітацію тварин після 60 діб гіпокінезії протягом 15, 30 і 60 діб в умовах звичайної рухової активності і при її стимулюванні (біг в тредмлі). При цьому об'єм фізичних навантажень складав від 150 м (1-3 день) до 900 м (58-60 день) при швидкості бігу 15-30 м/хв з інтервалами відпочинку 2-3 хв після 4-7 хв фізичної роботи.

В четвертій серії досліджень з метою вивчення пластичності м'язових волокон тварини, починаючи з 60 добового віку, отримували щоденні фізичні навантаження протягом 30 днів, об'єм яких складав від 150 м (1-3 день) до 900 м (28-30 день) при швидкості бігу 15-30 м/хв з кутом нахилу бігової доріжки +5-7 градусів, з інтервалами відпочинку 2-3 хв після 5-6 хв роботи.

При розробці програм фізичних навантажень ми дотримувались принципів систематичності і поступового збільшення їх об'єму та інтенсивності, які є основними в практиці фізичного виховання і спорту. За основу були взяті моделі субмаксимальних фізичних навантажень, розроблені Сзэне Т.П. (1978). Контрольні групи тварин утримувалися в клітках, де на одну тварину припадало 200 см² площі, що відповідає санітарним нормам. Їжу тварини одержували у відповідності з додатком від 04.12.78р. до наказу МОЗ № 163 від 10.03.66р. "Про добові норми харчування тварин і продуцентів". Воду подавали в соскових поїлках. Досліди проводилися у відповідності із "Правилами проведення робіт з експериментальними тваринами", затвердженими наказом МОЗ № 755 від 12.08.1977 р. Тварин умертвляли з дотриманням вимог евтанзії, викладених в методичних рекомендаціях "Використання тварин у досліді" (М., 1985) та "Евтанзія експериментальних тварин" (М., 1985).

Для дослідження скелетних м'язів використовували гістологічні (фарбування гематоксилін-еозином за Ерліхом, мікрофуксин-фукселіном, імпрегнацію азотнокислим сріблом за Більшовським-Грос і В.В.Купріяновим), гістохімічні (виявлення активності сукцинатдегідрогенази за Нахласом) та електронно-мікроскопічні методи.

Візуалізацію мікроциркуляторного русла проводили за допомогою внутрішньовенного введення пероксидази хрину фірми "Reanal". При цьому користувалися методом, який прийнятий в електронно-мікроскопічних дослідженнях (Банін В.В. и др.,

1983). Він включає наступні етапи: 1) внутрішньовенну ін'єкцію робочого розчину пероксидази хрину на фізіологічному розчині з розрахунку 15-25 мг ферменту на 100 г маси тварини; 2) фіксацію скелетних м'язів *in situ* 2,5% розчином глутарового альдегіду, приготовленого на фосфатному буфері (рН 7,2) протягом 10-15 хв; 3) екстерпацію скелетного м'язу і його фіксацію в тому ж розчині 20-60 хв; 4) промивку кусочків тканини в змінних порціях фосфатного буферу протягом 2 годин; 5) інкубацію в середовищі, яке містить тріс - НСІ - буфер (рН 7,6), субстрат - 3,3-діамінобензидин тетрагідрохлорид і 1% H_2O_2 протягом 30-45 хв.; 6) швидке промивання в декількох порціях дистильованої води, виготовлення зрізів на заморожувальному мікроскопі (30 мкм), зневоднення, просвітлення і закладення в бальзам. З допомогою даного методу виявляються практично всі мікросудини, які функціонують в інтервалі часу від початку введення пероксидази до фіксації тканини. Наш досвід показав, що для того, щоб фермент досягнув капілярів великого кола кровообігу, цей інтервал повинен бути не менше 6-10 с.

Для гістохімічного аналізу шматочки скелетних м'язів заморожували в фреоні-12, охолодженому рідким азотом і виготовляли зрізи в кріостаті. Для ідентифікації м'язових волокон різних фенотипів на поперечних зрізах виявляли активність сукцинатдегідрогенази за Нахласом. За основу була взята класифікація м'язових волокон за D.Pette, H.Stundte (1973).

Забір матеріалу для електронномікроскопічних досліджень проводили за загальноприйнятими правилами, дотримуючись швидкості при вирізанні м'язів і атравматизації при різанні їх на шматочки. Шматочки із зони іннервації м'язу фіксували в 1% розчині чотирьохокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері з рН 7,4. Матеріал нарізали кубиками об'ємом 1 мм³ і фіксували протягом 1,5-2 годин з триразовою зміною розчину осмію. Після фіксації тканинні блоки відмивали від надлишку фіксатора 0,1 М фосфатним буфером з наступним зневодненням в етиловому спирті зростаючої міцності (30°, 50°, 70°, 80°, 96°, 100°) по 10 хвилин з триразовою зміною в кожній з порцій. На стані зневоднення в 70° спирті проводили контрастування тканинних блоків в 2% розчині ураніацетату, приготовленому на 70° спирті на холоді.

Після закінчення дегідратації (3 порції 100° спирту) тканинні блоки послідовно насичували в трьох змінах суміші епону з аралдітом (по 1 годині в кожній). Після цього шматочки тканини вміщували в спеціально виготовлені форми і заливали смолою з наступною полімеризацією при температурі 56°С протягом 1 доби. Під мікроскопом МБС-2 здійснювали грубу заточку блоків. Напівтонкі зрізи з них товщиною 1 мкм фарбували 1%

розчином метиленового синього для світлооптичного вивчення і орієнтації вибраної ділянки для наступного електронномікроскопічного дослідження. Отримані на ультрамікротомах KB-4800 (третя модель) і Tesla BS-490 A зрізи монтували на мідні бленди з діаметром отвору до 1 мм з формваровою підкладкою (для оглядових знімків) або на опорні сітки, покриті вугільною плівкою — підкладкою (для великих збільшень). Для збільшення контрастності зрізи дофарбовували за Рейнольдсом. Вивчення і фотографування матеріалу проводили на мікроскопах марки УЕМВ-100В і ЕМ-100В при прискорюючих напругах 75, 80, 100 кВ з наступним фотографуванням при збільшеннях від 2000 до 50000 разів.

Морфометрія і стереологія. Для ультраструктурного стереологічного дослідження нами використані добре розроблені методи, які базуються на підрахунку кількості крапок тестової системи, які потрапили на профіль досліджуваних структур, і кількості перетинів тестової лінії з межами цих структур (Автандилов Г.Г., 1990).

З метою забезпечення рандомізованого репрезентативного вибору проводили систематичний випадковий відбір на кожному рівні дослідження (Урбах В.Ю., 1975). Оптимальний об'єм і структуру гніздового вибору визначали за завчасними дослідженнями. З цією метою використовували дисперсійний аналіз (Катинас Г.С., Полонский Ю.З., 1970).

Ультраструктурний стереологічний аналіз м'язових волокон проводили на електронних мікрографах при кінцевому збільшенні негатива в 16600 разів. Для підрахунку застосовували тестову систему коротких відрізків ($n = 21$, $P = 42$, $L = 0,6$ мкм). Проаналізована площа зрізів на даному рівні дослідження для кожної тварини складала $777,6$ мкм² (3 блоки по 20 накладок на зріз тестової системи розміром $12,96$ мкм²). Оцінювали об'ємну (V_{vj}) і поверхневу (S_{vj}) щільність міофібрил, мітохондрій, саркоплазматичного ретикулуму і Т-системи, відносний об'єм цитоплазматичного матриксу, включаючи пластинчастий комплекс, лізосоми, ліпідні краплі, рибосоми, глікоген і аморфну речовину цитоплазми.

Відносний об'єм визначали за формулою

$$V_{vj} = \frac{P_j}{P_t},$$

де P_j — число крапок, які попали на досліджувану структуру, P_t — загальна кількість крапок тестової системи.

Поверхневу щільність вираховували за формулою

$$S_{vj} = \frac{\sqrt{2\pi C_j}}{2LT},$$

де C_j — число перетинів тестової лінії з межами структури,

LT — загальна довжина тестової лінії (Weibel E.R., 1972).

На підставі первинних стереологічних параметрів вираховували поверхнево-об'ємне відношення міофібрил, мітохондрій, саркоплазматичного ретикулуму і Т-системи (Svj/Vvj), а також відношення об'єму основних органел до об'єму міофібрил (Vvj/Vvmф).

Для морфологічного дослідження атрофії скелетних м'язів і м'язових волокон ми визначали масу скелетних м'язів, кількість і діаметр м'язових волокон. Абсолютну кількість м'язових волокон підраховували на поперечних зрізах, зроблених в ділянці анатомічного поперечника м'язу за допомогою окулярної сітки.

Діаметр м'язових волокон визначали на поперечних зрізах з допомогою гвинтового окулярмікрометра МВО-1-15^х. Середній діаметр вираховували за формулою

$$D = \frac{a + b}{2},$$

де a — великий діаметр волокна, b — малий діаметр.

Биометричну характеристику (площу) нервово-м'язових і сенсорних закінчень отримували на основі відповідних вимірів їх довжини і ширини окулярмікрометром.

Морфометричний аналіз аксом'язових синапсів і мікросудин проводили на електронограмах з допомогою універсальної виміральної сітки (Шутка Б.В., Яцун В., раціоналізаторська пропозиція № 644, 1976). Остання представляє собою диск діаметром 100 мм, виготовлений з органічного скла, товщиною 0,5 мм. На поверхні диску тонкою голкою нанесена міліметрова сітка. Диск-сітка вмонтована в спеціальній касеті фотозбільшувача і може повертатися навколо оптичної осі на 180°.

Електронномікроскопічний негатив закладали в касету на універсальну сітку і проектували на екран. Морфометричний аналіз проводили при кінцевому збільшенні $\times 90000$. На поперечних зрізах аксонних терміналей вимірювали наступні параметри: периметр профілю терміналей, довжину синаптичного контакту (виміряну як довжину перетину терміналей, яка прилягає до м'язового волокна) — вона ж є довжиною активної зони синапсу (Hauser J., Rees T.S., 1979), кількість синаптичних везикул на весь зріз терміналей, який проходить через активну зону. На повздовжніх зрізах терміналей визначали кількість складок постсинаптичної мембрани на 1 мкм довжини терміналей (ця величина відповідає числу активних зон), відстань між синаптичними складками, довжину окремих складок, кількість синаптичних везикул в ділянці активної зони.

Біохімічні дослідження. Активність загальної лактатдегідрогенази визначали за методом Wroblewski в описі Э.Щеклик

(1966) з допомогою спектрофотометра СФ-16. Принцип методу полягає у вимірюванні швидкості зменшення екстинції НАД-Н₂ при довжині хвилі 340 нм під час реакції перетворення пірвіноградної кислоти в молочну. Активність виражається в міжнародних одиницях і відповідає перетворенню 1 Ммоля субстрату протягом хвилини в 1000 мл тканинного екстракту при температурі 25°С, при вимірі в діапазоні 340 нм, в кінцевому об'ємі 3 мл, товщині кювети в 1 см і об'ємі вимірюваної проби в 1 мл. Ізоферментний склад ЛДГ досліджували методом електрофорезу в поліакриламідному гелі. Кількісне визначення ізоферментів ЛДГ проводили скануванням гелів з допомогою мікрофотометра ІФО-4П. Площі окремих фракцій ЛДГ вимірювали на денситограмах, записаних на міліметровий папір, і вираховували величину кожної фракції в процентах по відношенню до їх суми.

Виділення ліпідів з м'язової тканини. 6-7 г сирової тканини вміщували в склянку мікроподрібнювача РТ-2, додавали 3 мл води і 30 мл суміші хлороформ : метанол (2:1) і гомогенізували при кімнатній температурі протягом 2 хв. Отриманий гомогенат центрифугували 10 хв. при 5000 г. Супернатант декантували, а осад після центрифугування ще раз екстрагували 2 хв. при кімнатній температурі 36 мл суміші хлороформ : метанол : вода (1:2:0,8). Гомогенат центрифугували 10 хв. при 5000 г, осад видаляли, а супернатанти об'єднували разом. Для об'єднаних супернатантів додавали 20 мл хлороформу і 20 мл води. Утворену емульсію розшаровували центрифугуванням протягом 30 хв. при 3000 г. Верхню водно-метанолову фазу видаляли, а нижню, яка містила хлороформ, збирали і концентрували в роторному випарнику при температурі -30°С. Для прискорення процесу і видалення слідів води в ході випару додавали 2-3 мл бензолу. Отриманий сухий осад (препарат сумарних ліпідів) розчиняли в 10 мл хлороформу і використовували для визначення загальних ліпідів і тригліцеридів (оптичний тест Варбурга), холестерину (кольорова реакція Либермана-Бурхарда), фосфоліпідів (метод Зильверсмит Девис), ВЖК (метод Орлова). Ці методичні прийоми описані в посібнику А.А.Покровського (1969). Інтенсивність фарбування при кольорових реакціях визначали фотоелектрокалориметром. Інтенсивність ПОЛ оцінювали за рівнем гідроперекисів ліпідів в гомогенатах прямого м'яза стегна при інкубації їх з аскорбіновою кислотою. Гідроперекиси ліпідів визначали за методом Плацера в модифікації Ю.А.Владимирова і А.И.Арчакова (1972). Статистичну обробку проводили на мікрокалькуляторі "Електроніка МК-54" з допомогою програм, складених за формулами В.Ю.Урбаха (1975).

Результати власних досліджень Тканинна і ультраструктурна організація прямого м'яза стегна в постнатальному онтогенезі

Результати проведених нами досліджень показали, що в основі будови м'язової тканини в постнатальному онтогенезі лежить функція: клітинно-симпластична морфо-функціональна одиниця (м'язове волокно — міосателітоцити). Останні виникають на етапі ембріонального міогістогенезу в результаті дивергентної диференціації проміобластів (Клишов А.А., 1984; Данилов Р.К., 1985).

Використовуючи методи світлової і електронномікроскопічної морфо- і стереометрії, нами встановлено, що в постнатальному онтогенезі фізіологічна гіпертрофія м'язових волокон (МВ) зумовлена двома взаємозв'язаними факторами: збільшенням кількості міофібрил і зростанням їх діаметру. Що стосується збільшення числа міофібрил, то воно зумовлене їх розщепленням при досягненні діаметру 0,9-1,1 мкм і формуванням нових з числа тонких і товстих міофіламентів, які синтезуються в субсарколемальній саркоплазмі. Гіпертрофія міофібрил відбувається за рахунок збільшення кількості протофібрил в саркомерах.

Відомо, що однією з необхідних умов морфогенезу міофібрил є ріст числа міоядер (Stromer M.H. et al., 1974), проліферативна активність яких в постнатальному онтогенезі, за даними Клишова А.А. (1975), практично відсутня.

Проведені дослідження показали, що диференціація МВ в постнатальному онтогенезі відбувається в тісній єдності симпластичних утворень і міосателітоцитів (МСЦ). Останні на будь-якому етапі постнатального розвитку представляють собою цілий ряд міогенних клітин з різними структурно-метаболічними ознаками (МСЦ 1-го і 2-го типів, які знаходяться під базальною мембраною МВ, "вільні" МСЦ, які локалізуються в інтерстиції). Нами встановлено, що МСЦ, які здатні до мітотичного поділу (Клишов А.А., 1987), в умовах розвитку МВ (пластичного стану) можуть як виселятися в інтерстиції, так і пенетрувати сарколему і включатися у склад багатоядерного симпласту. При цьому їх цитолема демонтується і цитоплазма зливається з саркоплазмою, а ядра стають складовою частиною МВ. Втрачаючи здатність до поділу і знаходячись в інтегрованому з міофібрилярним апаратом стані, вони забезпечують контроль синтезу міогенних білків (Данилов Р.К., 1990).

Одночасно слід зазначити, що значне число МСЦ 2-го типу, які мають добре диференційовану цитоплазму, утворюють інтердигітації з гемокапілярами. При цьому в їх цитоплазмі спостерігається велика кількість мікропіноцитозних везикул, як зв'язаних з елементарною мембраною, так і вільно розміщених в цито-

плазмі. Отже, є всі підстави стверджувати, що МСЦ є поліфункціональними клітинами і здатні до активного транспорту трофічних речовин.

З допомогою стереологічних методів встановлено, що диференціація МВ в постнатальному онтогенезі представляє собою синхронізовану ультраструктурну перебудову скорочувального апарату і забезпечуючих структурних утворень (мітохондрій, саркоплазматичного ретикулуму, Т-системи, трофічних включень). Враховуючи дані мікроскопії стереологічних показників (табл. 2), можна стверджувати, що розвиток МВ повністю завершується на 120 добу постнатального розвитку, після чого настає період стабілізації архітекtonіки м'язів. Після 360 діб в МВ знову починається ультраструктурна реорганізація, для якої характерним є зменшення поверхнево-об'ємного відношення мітохондрій та міофібрил, а також об'ємного відношення мітохондрій, Т-системи і саркоплазми до міофібрил. Ці зміни відображають тенденцію до потовщення міофібрил і зменшення об'єму енергоутворюючих структур.

На основі кількісного аналізу структурних основ екзоцитозу ацетилхоліну аксом'язових синапсів встановлено, що кожен дефінітивний фенотип МВ має нервово-м'язові закінчення з заданою синаптоархітектонікою, яка характеризується спраутингом рухового аксона, довжиною і шириною активних зон, кількістю і величиною синаптичних складок, числом кінцевих нейролемоцитів, особливістю будови субсинаптичної ділянки. У вигідному положенні знаходяться швидкі окисно-гліколітичні (FOG) МВ, які мають найскладнішу просторову організацію пресинаптичного полюсу аксом'язових синапсів, найбільше активних зон і синаптичних складок. За даними Зефірова А.Л. і співавт. (1986), саме ці структурні елементи визначають ступінь ефективності синаптичної передачі.

Для нервово-м'язових закінчень повільних окисативних (SO) МВ характерним є примітивний спраутинг рухових аксонів, менша кількість і довжина синаптичних складок, розширена субсинаптична зона. Нервово-м'язові закінчення швидких гліколітичних (FG) МВ за особливостями архітектоніки і ультраструктурної організації наближаються до інерваційного апарату FOG волокон. Відмінність полягає в значно ширшій субсинаптичній ділянці.

При електронномікроскопічному дослідженні нервово-м'язових веретен (НМВ) встановлено, що їх сполучнотканинна капсула має два листки — зовнішній і внутрішній. Зовнішня капсула складається з 6-8, а внутрішня з 3-4 шарів плоских клітин фібробластичного ряду, які мають мікрівійки і об'єднані між собою колагеновими фібрилами. Крім цього, кожне інтрафузальне МВ

Таблиця 2.

Результати стереологічного аналізу вікової ультраструктурної організації МВ у білих щурів;

$$\bar{X} \pm S\bar{x}, n = 5$$

Параметр	Вік тварин в добах					
	30	60	90	120	150	360
Відносний об'єм (Vvj)Б мм ³ /см ³						
Міофібрил	335.6±25.6	427.8±32.4*	513.6±23.8*	507.6±23.8	505.8±11.8	528.3±14.3
Мітохондрій	205.3±23.2	264.5±18.7*	312.0±12.6*	301.0±12.6	314.9±10.4	250.6±12.3
СР	6.8±1.2	8.2±1.4*	10.0±1.1*	9.6±1.1	10.7±1.3	11.0±0.9
Т-системи	10.2±1.6	14.5±1.8*	17.7±2.0*	16.7±2.0	18.6±1.0	20.3±1.1
Інших структур саркоплазми	115.4±18.9	134.7±12.8*	146.7±4.2	140.7±11.2	150.0±11.8	135.7±11.8
Відносна площа поверхні (Svj), м ² /см ³						
Міофібрил	0.625±38.4	0.724±42.5*	0.849±0.023*	0.839±0.023	0.860±0.019	0.842±0.073
Мітохондрій	0.845±0.108	1.245±0.178	1.519±0.103*	1.419±0.103	1.540±0.080	1.457±0.072
СР	0.179±0.062	0.286±0.048	0.323±0.033*	0.313±0.033	0.312±0.017	0.288±0.014
Т-системи	0.195±0.049	0.267±0.032	0.372±0.024	0.352±0.024	0.385±0.019	0.379±0.025

*P < 0.05 — достовірність показників по відношенню до попередньої вікової групи

має індивідуальну капсулу з вище названих клітин.

При постановці хімічної реакції на виявлення активності СДГ ідентифіковано три дефінітивні фенотипи інтрафузальних м'язових волокон. Типові "nuclear bag" волокна мають найменшу активність СДГ. Їх діаметр складає $12,47 \pm 0,71$ мкм. Проміжні "nuclear bag" волокна мають дещо вищу активність СДГ і діаметр $6,56 \pm 0,36$ мкм. В інтрафузальних м'язових волокнах (ІФМВ) "nuclear chain" спостерігається найбільша активність СДГ. Кожне веретено містить в середньому 1 типове "nuclear bag" волокно, 1 проміжне і 2 волокна з "ядерним перев'язом".

Під базальною мембраною ІФМВ зустрічаються міосателітоцити, які можуть виселятися в підкапсулярний простір.

Характерною особливістю субмікроскопічної організації міофібрил ІФМВ з "ядерним перев'язом" є слабо виражений Z-диск, добре помітна М-лінія, розвинута Т-система і саркоплазматичний ретикулум. Міофібрили ІФМВ з "ядерною сумкою" мають широкий Z-диск, ледь помітну М-лінію і слабо розвинуті каналці саркоплазматичної сітки.

Терміналі кільцевоспіральних сенсорних закінчень розміщуються під базальною мембраною у своєрідних ложах, утворених саркоплазмою ІФМВ. Аксоплазма терміналей багата мітохондріями і нейровезикулами. Аксолема знаходиться в тісному зв'язку з сарколемою, що зумовлено відсутністю базальної пластинки.

По обидві сторони від кільцевоспірального закінчення, в юктаекваторіальних зонах, під базальною мембраною ІФМВ локалізуються гронаподібні сенсорні закінчення. Їх терміналі розміщуються теж в глибоких ложах, утворених саркоплазмою. Аксоплазма цих терміналей багата мітохондріями і нейровезикулами. В околицях терміналей розміщується багато рибосом і мікропіноцитозних пухирців. При гістометричних дослідженнях встановлено, що площа кільцевоспіральних закінчень складає $455,02 \pm 7,65$ мкм², а гронаподібних — $241,73 \pm 19,25$ мкм².

Еферентні нервові закінчення ІФМВ мають площу розгалуження моторних аксонів $98,36 \pm 1,15$ мкм². За ультраструктурною організацією вони наближаються до аксом'язових синапсів SO екстрафузальних МВ.

Треба зазначити, що моторна інервація ІФМВ нерідко здійснюється двома видами аксом'язових синапсів: моно- і мультиаксонними. В останніх пресинаптичний полюс утворений декількома аксонними терміналями.

Опираючись на дані літератури та власні спостереження, необхідно зазначити, що НМВ мають спеціалізоване мікроциркуляторне русло, яке забезпечує їх кровопостачання. Воно включає артеріолу (діаметр $22,02 \pm 1,15$ мкм), яка розміщується поблизу від зовнішньої капсули вздовж веретена, предкапілярну артері-

олу, локалізовану в периаксіальному просторі, і 2-3 гемокапіляри, які проходять поряд з інтрафузальним м'язовим пучком і розміщуються в сполучнотканинному футлярі.

При дослідженні взаємовідношень МВ і гемокапілярів нами ідентифіковано на ультраструктурному рівні ендотеліально-м'язові комплекси, які у своїй сукупності є структурною основою екстракардіального механізму кровообігу, так званого "периферичного серця" (Аринчин Н.И., 1988). Субмікроскопічний аналіз різних станів МВ (скорочення, розслаблення) дозволив встановити мікротопографічну синхронізацію цитомембран ендотеліоцитів гемокапілярів і сарколеми МВ. При цьому утримування стінки гемокапілярів одним або двома МВ для створення відповідного механогемотранспортного ефекту здійснюється як завдяки специфічній архітектоніці капілярного ложа і присмоктувальної дії МВ, так і в результаті інтеграції МВ і гемокапілярів за допомогою сполучнотканинного каркасу (Хорошков Ю.А., Одинцов Н.А., 1988).

Вплив гіпокінезії на ріст тварин, скелетних м'язів і серця

На основі проведених експериментальних досліджень встановлено, що 30-300 добова гіпокінезія в ранньому постнатальному онтогенезі, при раціонально організованому харчуванні, не викликає втрати маси тіла, але повністю зупиняє фізіологічний ріст тварин. Свідченням цього є дефіцит маси тіла у експериментальних тварин, який на 300 добу обмеження рухової активності складає, порівняно з інтактними тваринами, 70,6% ($102,6 \pm 3,2$ проти $349,2 \pm 2,4$ г в номі; $P < 0,001$).

При порівнянні біомаси скелетних м'язів контрольних і піддослідних тварин встановлено, що гіпокінезія суттєво гальмує їх розвиток (табл. 3). При цьому після 30 добової гіпокінезії найбільшого репресивного впливу зазнає камбалоподібний м'яз, а після 60-120 діб — литковий і прямиий м'яз стегна.

Необхідно зазначити, що в умовах гіпокінезії утворюється достовірний дефіцит біомаси серця, порівняно з контрольними показниками, який складає на 120 добу експерименту 50,2% ($0,443 \pm 0,003$ проти $0,890 \pm 0,002$ в нормі; $P < 0,001$).

Вивчення взаємовідношень маси серця і скелетних м'язів показало, що як в інтактних, так і в експериментальних тварин між цими показниками існує обернена залежність, достовірність якої зростає як з віком, так і з терміном обмеження рухової активності.

Трьохмірна тканинна і ультраструктурна організація скелетних м'язів при гіпокінезії

Комплексні гістологічні, гістохімічні, ультрамікроскопічні, морфо- і стереометричні дослідження камбалоподібного і прямого м'яза стегна дозволили встановити, що вже після 30 діб гіпо-

Таблиця 3.
Динаміка зміни маси скелетних м'язів білих щурів при гіпокінезії в z
($\bar{X} \pm S\bar{x}$, $n = 10$)

Тривалість ГК в добах	Маса скелетних м'язів								
	Прямий стегна		P	Камбалоподібний		P	Литковий		P
	контроль	дослід		контроль	дослід		контроль	дослід	
30	0.211±0.005	0.179±0.007	<0.01	0.037±0.002	0.021±0.0009	<0.001	0.441±0.007	0.410±0.07	<0.01
60	0.491±0.04	0.227±0.01	<0.001	0.068±0.005	0.034±0.002	<0.001	1.020±0.07	0.422±0.03	<0.001
90	0.659±0.006	0.218±0.004	<0.001	0.065±0.002	0.036±0.002	<0.001	0.912±0.014	0.366±0.011	<0.001
120	0.619±0.019	0.419±0.019	<0.001	0.075±0.002	0.046±0.001	<0.001	1.102±0.008	0.471±0.025	<0.001
240	0.664±0.009	0.412±0.020	<0.001	—	—	—	—	—	—
300	0.668±0.009	0.401±0.020	<0.001	—	—	—	—	—	—

кінезії гальмується ріст і диференціація значної частини м'язових волокон. Як свідчать отримані результати дослідження, діаметр FOG-м'язових волокон в прямому м'язі стегна був менший на 16,4%, а в FG — на 18,3% порівняно з інтактними тваринами. Достовірної різниці в товщині SO-волокон не знайдено. Що стосується кількості м'язових волокон, то їх у прямому м'язі стегна було менше на 24,0%. Постановка реакції на виявлення активності СДГ і підрахунок кількості дефінітивних фенотипів м'язових волокон показав, що це в основному пов'язано з дефіцитом FG (37,3%) і FOG (18,5%) міонів.

В камбалоподібному м'язі, який містить тільки два фенотипи м'язових волокон (SO і FOG), дефіцит діаметру знайдений тільки з боку останніх і складає 24,0%. Щодо кількості міонів, то їх у камбалоподібному м'язі піддослідних тварин менше на 58,3%. При цьому дефіцит FOG-м'язових волокон складає 80,6%, а SO — 46,9%.

Ультраструктурний стереологічний аналіз показав, що 30 добова гіпокінезія викликає суттєву перебудову внутрішньо-волоконної архітекτονіки м'язових волокон. Так, в міонах прямого м'язу стегна на 14,4% збільшувався відносний об'єм міофібрил при одночасному зменшенні на 30,8% об'єму саркоплазматичного матриксу. Достовірних змін поверхнево-об'ємних відношень мітохондрій, Т-системи і саркоплазматичного ретикулуму не виявлено. Разом з цим спостерігається тенденція до зменшення об'ємного відношення мітохондрій до міофібрил.

Кількісний аналіз після 60 днів гіпокінезії показав, що в прямому м'язі стегна зростав дефіцит діаметру FOG, FG і SO м'язових волокон, який відповідно складав 55,6%, 55,2% і 41,8%. В камбалоподібному м'язі діаметр FOG-міонів був менший на 66,7%, а SO — на 42,9%. Що стосується абсолютної кількості міонів, то їх зареєстровано в прямому м'язі стегна менше на 29,0%, а в камбалоподібному — на 66,9%.

При стереологічному аналізі встановлено подальше збільшення відносного об'єму міофібрил на фоні зменшення їх поверхневої щільності. Непропорційні зміни поверхнево-об'ємних характеристик міофібрил призводять до зменшення їх поверхнево-об'ємного відношення на 28,4%. Ці зміни відображають тенденцію компенсаторного потовщення міофібрил (Семенова Л.А. и соавт., 1985).

Відносний об'єм і поверхнева щільність мітохондрій зменшувалися відповідно на 17,3% і 28,8%, а їх поверхнево-об'ємне відношення на 14,0%, що свідчить про набухання цих органел (Митюшин В.М., Козырева Е.В., 1978). Неадекватні зміни об'ємної щільності мітохондрій та відносного об'єму міофібрил обумовлюють зменшення об'ємного відношення мітохондрій до міо-

фібрил на 28,7%, що вказує на погіршення енергозабезпечення скорочувального апарату і зниження резервних функціональних можливостей м'язових волокон (Сергеев Ю.П. и соавт., 1979).

За умов 90 добової гіпокінезії відставання в рості FOG-волокон в товщину складало 59,0%, FG — 63,3% і SO-міонів — 64,0%. В камбалоподібному м'язі дефіцит діаметру FOG-волокон зростав до 68,8%, а в SO-міонах до 64,0%. Абсолютна кількість м'язових волокон за вказаних умов експерименту в прямому м'язі стегна була меншою на 9,2%, а в камбалоподібному на 58,8%. При цьому в прямому м'язі стегна FOG-волокон було менше на 8,1%, FG — на 12,5% і SO-міонів — на 10,7%. В камбалоподібному м'язі дефіцит FOG-волокон складав 30,7%, а SO — 60,6%.

На 300 добу обмеження рухової активності спостерігалася не тільки затримка розвитку м'язових волокон, але і їх інтенсивна атрофія. Так, в прямому м'язі стегна діаметр FOG-волокон зменшувався порівняно з 90 добовою гіпокінезією на 20,3%, FG — на 21,0% і SO-міонів — на 14,2%. В камбалоподібному м'язі цей показник для FOG-волокон був менший на 10,7%, а для SO-міонів — на 17,0%. Абсолютна кількість м'язових волокон теж була зменшена як порівняно з інтактними тваринами (прямий м'яз стегна — на 43,3%, камбалоподібний — на 65,9%), так і експериментальними після 90 днів гіпокінезії відповідно на 32,6% і 24,2%. При цьому в прямому м'язі стегна найбільшою мірою (60,9%) зменшувалася кількість FG, а в камбалоподібному FOG-волокон (88,0%).

Ультроструктурний стереологічний аналіз м'язових волокон показав, що за вказаних умов експерименту зменшувався відносний об'єм міофібрил, мітохондрій, саркоплазматичного ретикулу, T-системи порівняно з контрольними тваринами відповідно на 13,0%, 13,5%, 24,5% і 28,5%. Відносна площа поверхні для міофібрил знижувалася на 67,0%, мітохондрій — на 30,6%, саркоплазматичного ретикулу — на 20,8%. Визначення вторинних стереологічних параметрів засвідчило достовірне зменшення поверхнево-об'ємного відношення для міофібрил (67,0%) і мітохондрій (20,2%). Одночасно встановлено зменшення об'ємного відношення мітохондрій (22,8%), саркоплазматичного ретикулу (35,0%), T-системи (36,8%) до міофібрил.

Вивчення динаміки своєрідного патологічного процесу з боку м'язових волокон, який розвивається в умовах гіпокінезії (Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н., 1980) показало, що деструкція міонів починається змінами з боку мітохондріального апарату (набряк, просвітлення матриксу, редукція крист та поява дрібного осміофільного вмісту) з одночасною міграцією міоядер і оточуючих його органел з периферії в центр волокна, що за даними Сту-

дитського А.Н. (1988) свідчить про зміну їх метаболізму з аеробного на анаеробний. Найбільшій деструкції зазнають мітохондрії FOG-м'язових волокон, в результаті чого в цілому ряді міонів даного фенотипу не виявляється активність СДГ.

Дещо пізніше в деструктивний процес втягується саркоплазматичний ретикулум і Т-система. Руїнування мітохондрій і триад призводить до збільшення в міжфібрилярному просторі Ca^{++} , який у значних концентраціях є дуже токсичним для скорочувального апарату м'язового волокна (Mallat A., 1987; Martonosi A., 1989; Lucas-Heron B. et al., 1989). Зважаючи на те, що деструкція саркомерів починається з руїнування Z-дисків, треба вважати, що основною мішенню токсичної дії Ca^{++} є саме ці субмікроскопічні елементи саркомерів. Пошкодження Z-дисків веде спочатку до дезорганізації актинових протофібрил, а потім і міозинових, яка завершується їх лізісом.

У випадках, коли порушується цілісність сарколеми, м'язові волокна втрачають міоглобін і креатин-фосфокіназу, активізуються процеси анаеробного гліколізу, які ведуть до закислення саркоплазми (Шмаров В.Г., 1990), в результаті чого починається пікноз і каріорексис міоядер, деструкція і лізис саркомерів поширюється на все м'язове волокно.

При порівняно невеликих термінах гіпокінезії (30 діб) SO м'язові волокна, які мають найкраще розвинутий мітохондріальний апарат і його вигідну локалізацію (субсарколемальні ділянки), яка дає можливість на достатньому рівні підтримувати інтенсивність окисного фосфорилування (Семенцов В.Н. і др., 1977), проявляють відносну стабільність структурної організації.

Найхарактернішими змінами в SO-міонах є поява смужок надскорочення на рівні Z-дисків.

В FOG і FG-м'язових волокнах за вказаного терміну гіпокінезії найбільш вразливими структурами є мітохондрії, в яких тотальної руїнації зазнають кристи. Крім цього в перинуклеарному просторі з'являються мієліноподібні тільця, ліпідні включення, в ядрах відбувається перерозподіл гетерохроматину, який розміщується у вигляді невеликих конгломератів по всій нуклеоплазмі. В ядерцях зникає петлиста будова нуклеолеми; відбувається сегрегація фібрилярного і глобулярного компонентів.

Відзначено достовірне збільшення міосателітоцитів 2-го типу на 81,2% проти норми ($1,6 \pm 0,4$ проти $2,9 \pm 0,7$ на 100 мкм довжини м'язового волокна) при одночасному зменшенні клітинсателітів 1-го типу ($3,2 \pm 0,8$ проти $1,4 \pm 0,6$; $P < 0,005$). При цьому значна кількість міосателітоцитів 2-го типу виселяється в інтерстиціальний простір, концентруючись навколо мікрогемосудин, а міосателіти 1-го типу зазнають регенеративних змін, що призводить до зменшення чисельності популяції даних клітин.

За цих умов вперше зареєстровано розвиток міосателітоцитів з ядерно-саркоплазматичних ділянок м'язових волокон, які знаходяться в пластичному стані.

В результаті реактивації міоядер (очевидно, це ядра інкорпорованих міосателітоцитів) в саркоплазмі біля деяких ядер з підвищеним вмістом конденсованого хроматину з'являються невеликі, оточені мембраною неправильної форми каверни, які розміщуються у вигляді перев'язі. Зливання цих порожнин призводить до утворення елементарної мембрани навколо ядра. В результаті диференціації сегрегованої мікротериторії утворюється міосателітоцит, який локалізується під базальною мембраною.

При зростанні терміну гіпокінезії до 60 діб практично всі мітохондрії FOG і FG-м'язових волокон зазнають деструктивних змін (редукція крист, просвітлення матриксу), що призводить до глибокого розбалансування системи енергозабезпечення. Як результат, настає різке зменшення адаптаційних можливостей міонів, яке проявляється в фрагментації міофібрил з наступним їх лізисом.

В ділянках пошкодження (контрактур) SO-м'язових волокон відбувається клітинна інфільтрація. Клітини інфільтрату спочатку з'являються в невеликій кількості і одразу проникають в глибину вогнища брилчастого розпаду міофібрил. При подальшому зростанні інфільтрації некротизовані ділянки м'язових волокон зазнають резорбції, а інфільтрат продовжує зберігати форму міона. Подібні явища знайдені Р.Нудсоном et al. (1972) при мітохондріальній міопатії (вроджене захворювання скелетних м'язів, яке обумовлене порушенням будови і функції мітохондрій).

За вказаних умов експерименту вперше зареєстровано утворення життєздатних м'язових бруньок, шляхом фрагментації міонів, з якими пов'язують механізм розвитку вторинних м'язових волокон (Carlson B., 1973; Студитский А.Н., 1984).

За умов 90 добової гіпокінезії в скелетних м'язах поряд з дегенеративними явищами відбувався розвиток, так званих, вторинних м'язових волокон. Цей процес тісно пов'язаний з трансформацією міосателітоцитів через цілий ряд метаболічно-структурних перетворень у регенераційні міобласти. При цьому в скелетних м'язах спостерігався весь спектр міогенних утворень: "вільні" міосателітоцити, проміобласти, колонії міобластів, м'язові трубочки і вторинні м'язові волокна. Необхідно зазначити, що розвиток м'язових трубочок можливий тільки за умов значної щільності популяції міобластів — приблизно 50 клітин, яка досягається в результаті їх проліферації.

На 300 добу гіпокінезії основною патологічною ознакою є

лізис великих ділянок міофібрилярного апарату в FOG і FG м'язових волокнах. В саркоплазмі SO-міонів формуються гігантські автофагосоми, які містять осміофільні структури зернистої і ниткоподібної форми. Більшість мітохондрій знаходяться в стані аутолізу та набряку. Масові пошкодження саркоплазми ведуть до каріорексису міоядер, фрагментації та некрозу значної частини м'язових волокон. В некротизованих ділянках зростає кількість макрофагів і фібробластів. Останні, знаходячись в фазі синтетичної активності, продукують колаген, волокна якого заміщують м'язову тканину.

Морфометрична і ультраструктурна організація мікроциркуляторного русла скелетних м'язів при гіпокінезії

Затримка розвитку скелетних м'язів і своєрідний патологічний процес з боку м'язових волокон при гіпокінезії супроводжується відставанням в органо-специфічній диференціації мікроциркуляторного русла і суттєвими змінами в ультраструктурній організації мікрогемосудин м'язової тканини.

Результати морфометричного аналізу показали, що після 30 діб гіпокінезії діаметр просвіту артеріол, предкапілярних артеріол і гемокапілярів зменшувався відповідно на 18,5%, 19,3% і 20,4%. Просвіт збиральних венул зростав на 10,9% ($33,8 \pm 1,12$ проти $37,48 \pm 0,95$ мкм).

Встановлено зменшення як щільності гемокапілярів на 1 мм^2 площі поперечного зрізу прямого м'яза стегна ($842,3 \pm 63,1$ проти $545,5 \pm 28,34$), так і кількості, що припадає на одне м'язове волокно ($3,65 \pm 0,99$ проти $3,17 \pm 0,89$).

В інтимі артеріол утворюються набряки, еластична мембрана грубіє, розростається молода сполучна тканина. Нерідко можна спостерігати повне закриття просвіту артеріол, що зумовлено як скороченням гладких міоцитів, так і набряком ендотеліоцитів. В ділянках тангенціального напруження виявлені ознаки дистрофії окремих гладком'язових клітин (коагуляційний некроз цитоплазми). Ендотеліоцити артеріол здебільшого мають гіпертрофовані ядерця і ядра з глибокими бухтоподібними заглибинами.

Для предкапілярних артеріол характерною є поява в цитоплазмі ендотеліальних і гладком'язових клітин значної кількості ліпідних включень.

В ендотеліоцитах гемокапілярів зареєстровано набряк цитоплазми, зменшення щільності піноцитозних везикул, редукцію мітохондрій.

Дещо протилежні зміни знайдені в венозних відділах мікроциркуляторного русла. Дилатація венул призводить до витончення ендотеліальної стінки, просвітлення цитоплазми. В просвіті таких мікросудин зустрічаються атипові форми еритроцитів.

Вивчення топологічного розміщення гемокапілярів дозво-

лило виявити ознаки порушення їх конфігураційних взаємозв'язків з м'язовими волокнами. Репресія функції основного фібрилярного компоненту ендотеліально-м'язових контактів призводить не тільки до цілого ряду ультраструктурних змін в межах клітин, але і в міжклітинному просторі. З'являється набряк перикапілярного простору, змінюється архітектоніка фібрилярних елементів, які забезпечують взаємозв'язок мікросудин і м'язових волокон.

За умов 60 добової гіпокінезії зберігався підвищений тонус артеріол і предкапілярних артеріол. Діаметр просвіту цих судин був менший відповідно на 19,5% і 17,0% ($P < 0,01$). На даному етапі експерименту все частіше зустрічаються артеріоли з набряками інтими, які нерідко призводять до розриву внутрішньої еластичної мембрани і виходу клітинних елементів в просвіт судин. При ультраструктурному дослідженні виявлено розривлення базальної мембрани, нагромадження ліпідних включень в цитоплазмі гладких м'язових клітин і ендотеліоцитів. Поряд з цим в ендотеліоцитах відбувається контрастування структуризації цитоплазми, яке полягає в зростанні насиченості мікротрабекулярної решітки цитоскелету і появи пучків мікрофібрил. Нерідко спостерігається розходження між ендотеліальними і міжміоцитними контактами з утворенням щілин, через які лімфоцити і гранулоцити проникають в інтерстиціальний простір.

На 60 добу гіпокінезії продовжує зменшуватися як щільність гемокапілярів на 1 мм^2 площі поперечного перетину прямого м'яза стегна ($498,17 \pm 32,41$ проти $875,43 \pm 58,61$ в нормі; $P < 0,001$), так і ступінь капіляризації окремих м'язових волокон ($2,5 \pm 0,73$ проти $3,71 \pm 0,62$ в нормі; $P < 0,01$).

Гемокапіляри за характером субмікроскопічних змін можна розділити на три групи: 1) гемокапіляри з сильно вираженим набряком ендотеліоцитів, які містять гетерогенну популяцію піноцитозних везикул діаметром 25-140 нм; 2) гемокапіляри з темними і світлими ендотеліальними клітинами; 3) мікросудини з трансендотеліальними каналами. В більшості гемокапілярів на ламінарній поверхні ендотелію утворюється величезна кількість цитоплазматичних виростів. Для базального шару характерним є його розривлення і локальне зникнення.

З боку венозних ланок встановлено зростання діаметру просвіту посткапілярних венул ($22,44 \pm 1,17$ проти $18,84 \pm 1,25$ мкм; $P < 0,001$). Ці мікросудини здебільшого за вказаних умов експерименту містять ендотеліоцити з осміофільною цитоплазмою. Разом з цим необхідно відмітити появу ендотеліальних клітин з локальними набряками цитоплазми.

В збиральних венулах ступінь дилатації знаходився на попередньому рівні. Розшарування ендотеліального і базального шарів, безліч дрібних "стомат", мікроворсинок, "блебсів" і їх

відокремлення від ламінарної поверхні свідчило про наростання деструктивних явищ.

Після 60 добової гіпокінезії повністю порушуються конфігураційні мікрівібронасосні взаємозв'язки між цитомембранами в ендотеліально-м'язових контактах. Крім цього спостерігалось підсилення конфігураційної залежності капілярів від рельєфу м'язових волокон.

Морфометричний аналіз мікроциркуляторного руслу після 90 діб гіпокінезії показав, що гіпертонус артеріальних ланок, який мав місце після 30-60 діб обмеження рухової активності, змінився їх релаксацією. Про це свідчить відсутність достовірної різниці в діаметрі просвіту артеріальних мікросудин інтактних і піддослідних тварин.

Що стосується гемокапілярів, то їх просвіт був менший на 17,2% ($4,9 \pm 0,21$ проти $5,9 \pm 0,23$ мкм в нормі; $P < 0,05$), але достовірних змін порівняно з 60 добовою гіпокінезією не встановлено. Аналогічна ситуація спостерігалася з боку посткапілярних і збиральних венул.

Найбільш суттєві зміни сталися зі сторони щільності гемокапілярів. Вони були меншими як порівняно з контролем ($401,27 \pm 42,53$ проти $970,52 \pm 63,21$ в нормі; $P < 0,01$), так і з попереднім етапом експерименту ($401,27 \pm 42,53$ проти $875,43 \pm 58,61$ після 60 діб гіпокінезії; $P < 0,05$). Кількість гемокапілярів на одне м'язове волокно відповідно зменшувалася на 46,7% і 26,3%.

Субмікроскопічно у артеріолах і предкапілярних артеріолах можна констатувати такі зміни: гомогенізацію цитоплазми ендотеліоцитів, пошкодження їх цитомембран, зменшення числа піноцитозних везикул і нерідко пікноз ядер; в ділянках деендотелізації спостерігається адгезія тромбоцитів та фіксація моноцитів і лімфоцитів, а також їх міграція через інтиму артеріол в інтерстицій; в цитоплазмі гладких міоцитів з'являються агрегації проколагену.

В гемокапілярах зберігався набряк ендотеліоцитів, в їх цитоплазмі виявлено незначну кількість дрібних піноцитозних везикул та мітохондрій з просвітленим матриксом і повною редуцією крист. В цитоплазмі перичитів з'являються тонкі фібрилярні утворення.

Для посткапілярних і збиральних венул характерними є сильна осміофілія цитоплазми більшості ендотеліоцитів, розрихлення неклітинного компоненту базальної мембрани.

На 300 добу гіпокінезії в артеріолах і предкапілярних артеріолах відбувалося розшарування стінок, розпад еластичних волокон і заміна їх колагеновими, масові пошкодження мембран ендотеліальних клітин. При цьому просвіт діаметру артеріол і предкапілярних артеріол зростав порівняно з попереднім етапом експерименту на 12,1% і 16,1%. Достовірних змін порівняно з

контролем не встановлено.

Морфометрично встановлено зменшення діаметру просвіту гемокапілярів як порівняно з контрольними показниками ($3,95 \pm 0,34$ проти $5,62 \pm 0,42$ мкм в нормі; $P < 0,001$), так і з показниками після 90 діб гіпокінезії ($3,95 \pm 0,34$ проти $4,90 \pm 0,21$ мкм; $P < 0,05$). Поряд з цим встановлено подальше зменшення щільності гемокапілярів на 1 мм^2 площі поперечного перетину м'яза відповідно на 54,3% і 25,4%.

Електронномікроскопічні дослідження свідчать, що поряд з деструктивними змінами з боку гемокапілярів в багатьох випадках відбувається заростання їх просвіту.

Дилатація венозних мікросудин достовірно не змінюється порівняно з 90 добовою гіпокінезією, але просвіт посткапілярних і збиральних венул перевищує контрольні показники на 33,4% і 10,9%. За субмікроскопічного дослідження на фоні дилатації венозних ланок встановлено руйнування їх базальної мембрани, зростання осміофілії адвентиціальних клітин, десквамацію і некроз ендотелію.

Гістометрична і ультраструктурна організація нервово-м'язових закінчень скелетних м'язів в умовах гіпокінезії

Проведені дослідження показали, що реакція нервово-м'язових закінчень на гіпокінезію проявляється на всіх рівнях їх структурної організації. Вже після 30 діб гіпокінезії відбувається набряк і розшарування мієлінової оболонки, конденсація хроматину в ядрах нейролемоцитів, що є ознаками порушення аксон-нейролемоцитних взаємовідношень (Матюшкин Д.П., 1980). На рівні термінальних розгалужень рухового аксона відбувається зменшення площі нервово-м'язового контакту на 13,8% ($206,3 \pm 1,2$ проти $239,6 \pm 3,8$ мкм² в нормі), що стосується аксом'язових синапсів, то відмічено зменшення периметру терміналей аксона, довжини синаптичних контактів, ширини та довжини активних зон пресинаптичної мембрани, кількості синаптичних пухирців як на весь зріз терміналі, так і біля активних зон (табл. 4). Як видно з таблиці, ці зміни в найбільшій ступені виражені в аксом'язових синапсах FOG і FG-міонів, що в значній мірі пояснює їх малу стійкість проти патогенетичного впливу гіпокінезії. З боку постсинаптичних структур знайдено збільшення відстані між синаптичними складками, що обумовлено їх руйнуванням. За вказаних умов експерименту в кінцевих нейролемоцитах зростає кількість полірибосом, розширюються каналці зернистої ендоплазматичної сітки, з'являється велика кількість вторинних лізосом.

При тривалості гіпокінезії 60 діб по ходу внутрішньом'язових еферентних мієлінових волокон і особливо їх претермінальних ділянок зростає ступінь розшарування мієліну, в аксоплазмі від-

бувається агрегація нейротрубочок і філаментів, збільшується периаksonальний простір. Що стосується клітин фібробластичного ряду, які утворюють ендоневральну оболонку, і нейролемоцитів, то їх цитоплазма зазнає вакуолізації.

В аксом'язових синапсах FG-м'язових волокон більшість постсинаптичних складок руйнується, синаптична щілина розширюється і в неї проникають відростки кінцевих нейролемоцитів, дворяючи, так звані, зони мовчання синапсів (Hurlbut W., 1989). В термінальній аксоплазмі рухових аксонів продовжує зменшуватися кількість синаптичних пухирців, периметр терміналей, довжина синаптичного контакту і кількість синаптичних складок як порівняно з контролем, так і з попереднім етапом експерименту (табл. 5).

Аксом'язові синапси SO-м'язових волокон за даного терміну гіпокінезії виявляли дещо більшу стійкість до патогенетичного впливу гіпокінезії, про що свідчить значно менша ступінь дедиференціації структурних основ екзоцитозу ацетилхоліну і прогностичних нейротрофінів (табл. 5).

Аксом'язові синапси FOG-м'язових волокон за характером кількісних змін займають проміжне положення (табл. 5). Характерним для них є поява постсинаптичних ділянок з повною відсутністю синаптичних складок. В субсинаптичній зоні з'являються кристалоподібні включення, а в термінальній аксоплазмі більшість мітохондрій зазнають редукції крист і просвітлення матриксу.

При зростанні терміну гіпокінезії до 90 діб відбувався дегенеративний розпад частини внутрішньом'язових еферетних і термінальних розгалужень рухових аксонів. Площа нервово-м'язових контактів була меншою як порівняно з контролем ($198,2 \pm 21,4$ проти $573,7 \pm 36,0$ мкм² в нормі; $P < 0,001$), так і з показниками після 60 діб гіпокінезії ($198,2 \pm 21,4$ проти $297,1 \pm 0,3$ мкм²; $P < 0,01$).

За електронномікроскопічного вивчення нервово-м'язових закінчень знайдено пошкодження ендоневральної оболонки, розпад пластин мієліну, зморщування аксонів і філаментозну деструкцію аксоплазми. В аксом'язових синапсах FG-м'язових волокон терміналі рухових аксонів переобтяжені синаптичними пухирцями, що свідчить про розвиток міастенічного синдрому (Engel A.G., Santa T., 1973; Гехт Б.М., Ильина Н.А. и др., 1979). Їх кількість на весь зріз через активну зону синапса зростає на 58,0% ($320,4 \pm 52,2$ проти $202,7 \pm 35,1$ в нормі; $P < 0,01$) і на 350,0% порівняно з 60 добовою гіпокінезією ($320,4 \pm 52,2$ проти $71,2 \pm 16,7$; $P < 0,001$).

Специфічними змінами для аксом'язових синапсів FOG-міонів є локальні розширення синаптичної щілини, в яку прони-

Таблиця 4.

Гістометрична характеристика аксом'язових синапсів м'язових волокон прямого м'яза стегна після 30 діб гіпокінезії

$$(\bar{X} \pm S\bar{x}, n = 5)$$

Структурні елементи і їх параметри	Фенотипи м'язових волокон					
	FOG		FG		SO	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Поперечні зрізи						
Периметр терміналі, мкм	6.8±0.6	4.4±0.2 P<0.01	7.2±0.8	4±0.3 P<0.001	6.4±0.5	4.1±0.4 P<0.01
Довжина синаптичного контакту, мкм	1.8±0.2	1.0±0.1 P<0.05	2.8±0.2	1.4±0.1 P<0.001	2.3±0.2	1.4±0.2 P<0.05
Кількість складок постсинаптичної мембрани	9.2±1.1	6.0±0.9 P<0.05	10.6±1.2	6.1±0.8 P<0.001	8.8±1.4	6.4±1.1 P<0.05
Відстань між складками, мкм	0.3±0.01	0.4±0.02 P<0.001	0.2±0.007	0.4±0.009 P<0.001	0.2±0.009	0.3±0.007 P<0.001
Довжина окремої складки, мкм	2.6±0.15	2±0.07 P<0.01	2.8±0.12	2.2±0.08 P<0.01	3.9±0.07	3.2±0.11 P<0.05
Ширина активної зони, мкм	0.12±0.01	0.1±0.003 P<0.01	0.2±0.01	0.1±0.01 P<0.01	0.2±0.02	0.2±0.01 P<0.01
Довжина активної зони, мкм	0.6±0.03	0.4±0.01 P<0.01	0.8±0.02	0.5±0.01 P<0.01	0.6±0.08	0.5±0.04 P<0.05
Кількість везикул на весь зріз через активну зону	158.2±11.4	1030±68 P<0.01	165.3±17.5	1013±124 P<0.01	186.0±15.3	1320±158 P<0.05
Кількість везикул в ділянці активної зони	9.8±0.67	6.2±0.64 P<0.01	10.6±0.47	6.2±0.32 P<0.001	14.9±0.75	12.0±0.75 P<0.05

Таблиця 5

Гістометрична характеристика аксом'язових синапсів м'язових волокон прямого м'яза стегна після 60 діб гіпокінезії ($\bar{X} \pm S\bar{x}$, n= 5)

Структурні елементи і їх параметри	Фенотипи м'язових волокон								
	FOG			FG			SO		
	Контроль	Дослід	%	Контроль	Дослід	%	Контроль	Дослід	%
Поперечні зрізи									
Периметр терміналі, мкм	6.6±0.4	4.6±0.2* P<0.01	30.3	7.0±0.6	4.2±0.3* P<0.01	40.0	6.4±0.3	4.0±0.4* P<0.01	37.5
Довжина синаптичного контакту, мкм	2.2±0.2	0.6±0.01* P<0.001	72.7	3.0±0.2	0.8±0.1* P<0.001	73.3	2.6±0.2	1.0±0.1* P<0.001	61.5
Кількість складок постсинаптичної мембрани	9.8±1.2	5.1±0.6* P<0.01	47.9	10.8±1.0	3.8±0.9* P<0.001	64.8	8.0±1.2	5.2±1.1* P<0.01	35.0
Відстань між складками, мкм	0.3±0.01	0.5±0.01 P<0.001	66.6	0.2±0.07	0.6±0.001 P<0.001	200.0	0.2±0.01	0.3±0.01 P<0.001	50.0
Довжина окремої складки, мкм	2.8±0.12	1.8±0.07 P<0.01	35.7	3.0±0.15	1.6±0.9 P<0.01	46.6	3.9±0.14	2.8±0.11 P<0.05	28.2
Ширина активної зони, мкм	0.4±0.002	0.1±0.001 P<0.01	75.0	0.31±0.03	0.1±0.002 P<0.001	67.7	0.2±0.02	0.2±0.001 —	—
Довжина активної зони, мкм	0.8±0.03	0.3±0.01 P<0.01	62.5	0.8±0.02	0.4±0.01 P<0.01	50.0	0.6±0.003	0.5±0.002 P<0.5	16.6
Кількість синаптичних везикул на весь зріз через активну зону	190.2±25.4	85.6±10.7* P<0.01	54.9	213.5±27.4	71.2±16.7* P<0.01	66.6	194.2±30.2	160.4±18.3* P<0.05	17.4
Кількість синаптичних везикул в ділянці активної зони	10.6±0.23	5.3±0.12 P<0.01	50.0	12.4±0.32	4.2±0.27 P<0.01	66.1	15.8±1.2	10.6±0.47 P<0.05	32.9

*P < 0.05 — достовірність показників порівняно з 30 добовою Г

кають відростки кінцевих нейролемоцитів. Постсинаптична мембрана в середньому має $3,2 \pm 0,8$ складки на всю довжину синаптичного контакту проти $9,0 \pm 1,3$ в нормі ($P < 0,001$).

Гістометричний аналіз синапсів SO- м'язових волокон за свідчив подальше зменшення довжини синаптичного контакту, ширини і довжини активних зон пресинаптичної мембрани, кількості синаптичних складок. В термінальній аксоплазмі зростала кількість синаптичних пухирців ($295,2 \pm 43,7$ проти $220,2 \pm 28,2$ в нормі; $P < 0,05$), мітохондрії зазнавали набряку і просвітлення, зростала ступінь агрегації нейрофіламентів.

На даному етапі експерименту спостерігалось формування, так званих, вторинних синапсів. Характерною ознакою їх будови є поодинокі синаптичні складки, або їх повна відсутність. Дослідження синаптичних пухирців показало, що в даних синапсах вони можуть зв'язуватися як активними, так і неактивними ділянками пресинаптичної мембрани. Другою особливістю вторинних синапсів є те, що пресинаптичний полюс нерідко має мультіаксонну будову. Враховуючи те, що в аксоплазмі таких терміналей відсутні синаптичні пухирці, є підстави стверджувати, що вони є похідними безмієлінових нервових волокон, а самі синапси забезпечують виключно нейротрофічний вплив на м'язові волокна.

Обмеження рухової активності протягом 300 днів призводить до масової атрофії рухових аксонів, деструкції пресинаптичного і постсинаптичного полюсів аксом'язових синапсів. Денерваційний процес у всіх випадках супроводжується активізацією кінцевих нейролемоцитів. Про це свідчить наявність в їх цитоплазмі великої кількості рибосом, розширених каналців зернистої ендоплазматичної сітки, а також деконденсованого хроматину.

Гістометрична та ультраструктурна організація нервово-м'язових веретен при гіпокінезії

За умов 30 добової гіпокінезії відбувається набряк сполучнотканинної капсули веретена. В юктаекваторіальних ділянках внутрішньоверетенних м'язових волокон "ядерна сумка-1" і "ядерна сумка-2" з'являються суперскорочення саркомерів, а в інтрафузальних м'язових волокнах (ІФМВ) "ядерний перев'яз" тонкі міофіламенти зазнавали дезінтеграції. При постановці реакції на виявлення активності СДГ в ІФМВ "ядерна сумка" спостерігалось зростання її активності. В ІФМВ "ядерний перев'яз" активність даного ферменту падала, а в деяких міонах була зовсім відсутньою.

За даних умов експерименту всі ІФМВ відставали в своєму розвитку, гальмувалася диференціація як сенсорних (гроноподібних і кільцевоспіральних), так і моторних нервово-м'язових закінчень веретена (табл. 6). Поряд з затримкою росту знайдена

ціла гама реактивних змін (вакуолізація аксоплазми, набряк мітохондрій і зменшення числа нейровезикул в сенсорних і рухових терміналях).

Вище описані зміни нервово-м'язових веретен супроводжувалися вазоконстрикцією предкапілярних артеріол та зменшенням діаметру просвіту гемокапілярів, які утворюють спеціалізоване мікроциркуляторне русло веретена (табл. 6).

При тривалості гіпокінезії до 60 діб набряк зовнішньої капсули спадав, а кількість шарів клітин зменшувалася, в результаті чого стінка ставала тоншою порівняно з попереднім етапом експерименту на 48,7%. Суттєвим було зростання ширини підкапсулярного простору (173,1%), яке, з одного боку, зумовлене зменшенням числа шарів клітин зовнішньої і внутрішньої капсул, а, з другого, завдяки збільшенню внутрішньокапсулярної рідини і атрофії ІФМВ, особливо "ядерна сумка-1". Поряд з атрофією в ІФМВ спостерігалися коліквацийний некроз міофібрил, руйнування мембранних утворень (саркоплазматичної сітки, термінальних цистерн) і деструкція мітохондрій.

З боку інерваційного апарату зафіксовано подальше зменшення площі гронподібних ($71,6 \pm 13,5$ проти $180,3 \pm 21,2$ мкм² після 30 діб гіпокінезії; $P < 0,05$) і кільцевоспіральних ($142,7 \pm 17,8$ проти $180,3 \pm 21,2$ мкм²; $P < 0,05$). В результаті розпаду терміналей гама-аксонів площа нервово-м'язових закінчень була меншою на 75,6% порівняно з інтактними тваринами і на 34,3% за показники після 30 діб гіпокінезії.

На субмікроскопічному рівні знайдено розшарування мієлінової оболонки аферентних нервових волокон, набряк цитоплазми нейролемоцитів, агрегацію нейрофіламентів, вакуолізацію і зморщування аксонів, зменшення кількості синаптичних пухирців в ділянці активних зон пресинаптичної мембрани аксом'язових синапсів ІФМВ ($4,6 \pm 0,6$ проти $6,3 \pm 0,2$ після 30 діб гіпокінезії; $P < 0,05$).

Предкапілярні артеріоли продовжували залишатися спазмованими (діаметр просвіту $16,7 \pm 0,8$ проти $20,8 \pm 1,6$ мкм в нормі; $P < 0,05$). Що стосується гемокапілярів нервово-м'язового веретена, то діаметр їх просвіту був менший на 22,5% ($4,8 \pm 0,07$ проти $6,2 \pm 0,4$ мкм в нормі; $P < 0,05$). Поряд з цим порушувалася цілісність сполучнотканинного футляру навколо гемокапілярів.

Динаміка зміни активності ЛДГ, її ізоферментного спектру і вмісту ліпідів в скелетних м'язах при гіпокінезії

В прямому м'язі стегна в нормі переважає анаеробний шлях окислення вуглеводів. Ізоферментний спектр ЛДГ в даному м'язі представлений головним чином ЛДГ₄ і ЛДГ₅, які складають відповідно 23,8% і 51,9%.

В ході статевого дозрівання в прямому м'язі стегна зростає

Таблиця 6

Морфометричні характеристики НМВ після 30 діб гіпокінезії
 $(\bar{X} \pm S\bar{X}, n = 5)$

Показник	Контроль	Дослід	P	%
Товщина зовнішньої капсули, мкм	3.7±0.2	7.8±0.1	<0.001	110.8
Товщина внутрішньої капсули, мкм	2.3±0.1	1.5±0.03	<0.01	34.7
Діаметр НМВ в екваторіальній зоні, мкм	135.2±3.6	163.7±7.2	<0.05	21.0
Ширина підкапсулярного простору, мкм	8.3±0.8	13.4±0.6	<0.001	61.4
Діаметр ІФМВ «ядерна сумка-1», мкм	12.6±0.5	10.0±0.3	<0.05	20.6
Діаметр ІФМВ «ядерна сумка-2», мкм	10.2±0.6	8.2±0.4	<0.05	19.6
Діаметр ІФМВ «ядерний перев'яз», мкм	6.4±0.04	4.7±0.03	<0.05	26.5
Площа кільцевоспіральних нервових закінчень, кв.мкм	220.5±13.9	180.3±21.2	<0.05	18.2
Площа гроноподібних нервових закінчень ІФМВ, кв.мкм	115.2±15.4	94.8±17.8	<0.05	17.7
Площа нервово-м'язових закінчень, кв.мкм	41.4±8.2	31.7±12.3	<0.01	23.4
Кількість синаптичних везикул біля активної зони	10.2±0.7	6.3±0.2	<0.01	38.2
Діаметр просвіту предкапілярної артеріоли НМВ, мкм	20.4±1.2	15.2±0.9	<0.01	25.4
Діаметр просвіту гемокапілярів НМВ, мкм	6.0±0.3	4.2±0.06	<0.01	30.0

відсоток ЛДГ₁ і ЛДГ₂, але за своїм типом спектр ЛДГ залишається «м'язовим».

Перебування тварин в умовах 30 і 60 добової гіпокінезії призводило до зменшення активності загальної ЛДГ в м'язовій тканині на 32,9% (P < 0,001). Що стосується ізоферментного спектру, то після 30 діб встановлено зменшення на 16,0% фракції ЛДГ₅ (P < 0,05). Через 60 діб гіпокінезії на фоні зменшення ЛДГ₅ зафіксовано зростання на 75,0% фракції ЛДГ₁ (P < 0,01), тобто зміщення спектру в сторону «серцевого» типу.

За умов 90 добової гіпокінезії активність загальної ЛДГ поверталася до норми, а в ізоферментному спектрі встановлено достовірне зменшення на 11,6% фракції ЛДГ₄.

Після завершення 300 діб гіпокінезії активність загальної

ЛДГ зростала на 33,5% ($P < 0,001$) і в основному за рахунок фракції ЛДГ₅, що є наслідком підвищеної інтенсивності розпаду міогенних білків (Федоров І.В., 1984).

У тварин з обмеженою руховою активністю виявлено наростання в м'язовій тканині найбільш лабільної і енергетично багатой фракції ліпідів — вільних жирних кислот (в середньому на 29,2%; $P < 0,01$), холестерину, особливо на 90 добу гіпокінезії (66,3%; $P < 0,001$). Що стосується тригліцеридів, то їх кількість зменшувалася після 30 дів гіпокінезії на 39,2%, 60 — на 28,5%, 90 — на 16,6% ($P < 0,05$) і на 300 добу — на 24,5% ($P < 0,001$). Найбільше зменшення кількості фосfolіпідів встановлено на 30 (50,0%), 60 (43,0%) і 300 доби обмеження рухової активності (26,8%). Кількість загальних ліпідів на 30, 60, 90 і 300 добу гіпокінезії була достовірно зменшена відповідно на 19,9%, 25,4%, 30,5% і 16,7%.

Після 30 і 60 дів гіпокінезії зростала інтенсивність перекисного окислення ліпідів, про що свідчило нагромадження в м'язовій тканині первинних продуктів переоксидації — ацил-гідропереокисів (48,4% і 62,5% відповідно; $P < 0,001$), яке у свою чергу приводить до зменшення стійкості ліпіднобілкових комплексів мембран, підсилює розпад білків, веде до пошкодження мітохондрій (Шидловская Т.Е., 1984).

Вплив фізичних навантажень на адаптацію скелетних м'язів до гіпокінезії

Обмеження рухової активності тренуваних тварин протягом 30 дів не викликало затримки росту організму, про що свідчила відсутність дефіциту маси тіла ($123,5 \pm 2,7$ проти $133,0 \pm 3,6$ в нормі; $P > 0,5$). Проте гіпокінезія протягом 60 дів дещо гальмувала ріст тварин, в результаті чого дефіцит маси тіла складав 21,2% ($118,3 \pm 4,3$ проти $150,1 \pm 9,8$ г в нормі; $P < 0,05$). При визначенні маси скелетних м'язів після 30 дів гіпокінезії не встановлено достовірних змін порівняно з контролем, а після 60 дів зареєстрований дефіцит маси в прямому м'язі стегна, камбалоподібному і литковому м'язах, який відповідно складав 46,8%, 41,2% і 46,4% ($P < 0,001$).

Гістометричними дослідженнями встановлено, що після 30 дів гіпокінезії відбувається затримка розвитку тільки SO-м'язових волокон (дефіцит діаметру складав 30,0%), а їх кількість була меншою на 32,4%. За умов 60 добової гіпокінезії відбувалася часткова затримка розвитку всіх дифінітивних фенотипів м'язових волокон, а також утворювався їх дефіцит як порівняно з контролем, так і з попереднім етапом експерименту. При цьому загальна кількість міонів в прямому м'язі стегна була меншою на 14,1% порівняно з контролем і на 37,8% відносно показників після 30 дів гіпокінезії.

Проведені електронномікроскопічні дослідження показали, що на 30 добу гіпокінезії найпоширенішими змінами є суперскорочення саркомерів в SO-міонах, які нерідко викликали повну дезінтеграцію міофіламентів. Значно стійкішими до патогенетичного впливу 30 добової гіпокінезії виявилися FOG і FG-м'язові волокна тренованих тварин. Серед ультраструктурних змін найбільш характерними були розширення каналці саркоплазматичної сітки і локальні пошкодження окремих міофібрил. Виселення міосателітоцитів в інтерстицій відбувалося тільки з під базальної мембрани SO-міонів.

За умов 60 добової гіпокінезії в SO-волокнах з'являлися масові пошкодження мітохондрій, зростання числа ліпідних включень, які вступали в тісний контакт з мітохондріями. Міофібрили даного фенотипу м'язових волокон зазнавали атрофії і лізису.

В FG-м'язових волокнах за даних умов експерименту знайдено набряк мітохондрій в периферичних і лізис в центральних ділянках м'язових волокон, зростання кількості первинних лізосом, розщеплення міофібрил. В FOG-волокнах на фоні деструкції мітохондрій і саркоплазматичної сітки відбувався вогнищевий лізис саркомерів. Міосателітоцити утворювали інтердегітації з гемокапілярами, в їх цитоплазмі знаходилася велика кількість рибосом і піноцитозних везикул.

В інтерстиціальному просторі зростало число функціонально активних фібробластів і колагенових фібрил, а також міогенних клітин в різних стадіях структурно-метаболических трансформацій (від "вільних" міосателітоцитів до міобластів).

Дослідження моторної інервації дозволило встановити, що нервово-м'язові закінчення тренованих тварин після 30 діб гіпокінезії за своєю будовою практично не відрізнялися від аналогічних у контрольних тварин. При цьому площа розгалуження терміналей рухового аксона перевищувала контрольні величини на 24,1% ($297,4 \pm 8,2$ проти $239,6 \pm 3,8$ мкм² в нормі; $P < 0,05$). Аксом'язові синапси FOG і FG-м'язових волокон зберігали всі структурні елементи, які необхідні для забезпечення екзоцитозу ацетилхоліну, натомість в термінальній аксоплазмі синапсів SO-волокон знайдено зменшення кількості синаптичних пухирців, особливо в ділянці активних зон, проникнення в синаптичну щілину відростків нейролемоцитів.

Обмеження рухової активності до 60 діб приводило до деструкції термінальних розгалужень аксонів і, як результат, до зменшення площі нервово-м'язових контактів на 16,4% ($305,8 \pm 8,4$ проти $366,1 \pm 1,8$ мкм² в нормі; $P < 0,05$). Ступінь пошкодження структурних елементів синапсів всіх фенотипів волокон в основному відповідає тим, які були знайдені у не тренованих

тварин після 30 діб гіпокінезії.

Нервово-м'язові веретена тренуваних тварин проявляли теж високий ступінь резистентності до 30 добової гіпокінезії. Деякі адаптаційні зміни полягали в підвищеному натягу екваторіальних ділянок ІФМВ у зв'язку із скороченням саркомерів в юктаекваторіальних відділах, набряку мітохондрій і агрегації нейрофіламентів в аксоплазмі терміналей гама-аксонів.

На 60 добу гіпокінезії в нервово-м'язових веретенах зафіксовано набряк капсул, пошкодження міофібрил ІФМВ, руйнування аксолеми сенсорних терміналей і деструкцію аксом'язових синапсів. Вказані зміни супроводжувалися вазоконстрикцією артеріол і закриттям гемокапілярів, які забезпечують трофіку інтрафузального пучка.

З боку мікроциркуляторного русла скелетних м'язів тренуваних тварин після 30 діб гіпокінезії не знайдено достовірних змін просвіту судин та рівня капіляризації м'язових волокон.

Однак, значна кількість мікросудин втрачає структурно-функціональні зв'язки з екзоскелетом м'язових волокон. Це проявляється в руйнуванні волокнистих структур і збільшенні перимікросудинного простору і веде до розбалансування мікробірогемонасосної функції скелетних м'язів.

Під впливом 60 добової гіпокінезії у тренуваних тварин просвіт артеріол і предкапілярних артеріол зменшувався відповідно на 16,9% і 15,9% ($P < 0,05$). Аналогічна тенденція спостерігалася з боку гемокапілярів, в яких ендотеліоцити зазнавали значного набряку. В венозних мікросудинах знайдено агрегацію тромбоцитів та їх адгезію з ендотелієм, утворення на люмінальній поверхні ендотеліоцитів чисельних виростів. Зони вібронасосних контактів, які постійно зустрічаються у інтактних тварин, відсутні.

Вплив рухової активності на відновлення росту скелетних м'язів після гіпокінезії

Відновлення рухової активності після 60 діб гіпокінезії сприяє експресії генетичної програми росту організму і розвитку скелетних м'язів. Як випливає з даних табл. 7, вже в перші 15 діб рекреаційних заходів тварини швидко росли, але дефіцит маси тіла, порівняно з контролем, зберігався. В наступні періоди відновлення (30-60 діб) тварини продовжували інтенсивно рости, про що свідчить збільшення маси їх тіла. Показники динаміки маси тіла свідчать про те, що відновлення росту ефективніше проходило у тварин, які після гіпокінезії щоденно зазнавали фізичних навантажень.

Щодо прямого м'яза стегна, то навіть 60 діб рекреації не забезпечувало ліквідації дефіциту його маси. При цьому темп відновлення росту м'язів був швидший в умовах стимулювання рухової активності. Маса серця на 60 добу відновлення в умовах

фізичних навантажень перевищувала контрольні показники на 20,5%.

При відновленні росту скелетних м'язів в них розвиваються процеси міогістогенезу. В першу чергу зростає проліферативна активність міосателітоцитів, які, трансформуючись в міобласти, створюють потужне джерело розвитку вторинних м'язових волокон. Фізичні навантаження в період відновлення стимулюють виділення міосателітоцитів із складу МВ, що найактивніше відбувається в перші 15 діб рекреації. В цей період наростання маси м'язової тканини здійснюється в основному за рахунок репарації і росту МВ як в товщину, так і в довжину. Репаративна регенерація МВ тісно пов'язана з міосателітоцитами. Ці клітини виконують дві функції в регенеруючих МВ: 1) забезпечують активний транспорт піноцитозних везикул, знаходячись в тісному контакті з гемокапілярами; 2) є джерелом розвитку міоядер.

Дослідження моторної інервації показали, що протягом першого етапу відновлення (15 діб) відбувається реінервація атрофованих МВ шляхом вrostання аксонних терміналей в "старі" підошви аксом'язових синапсів. При імпрегнації нітратом срібла виявляються явища як первинного, так і вторинного sprouting рухових аксонів, але архітектоніка нервово-м'язових закінчень ще є дуже примітивною. На ультраструктурному рівні в еферентних аксонах встановлено відновлення об'єму аксоплазми, впорядкування мієлінової оболонки, деконденсацію хроматину в ядрах нейролемоцитів. В аксом'язових синапсах (первинних і вторинних) відзначена диференціація структур, які забезпечують утворення запасу і екзоцитоз ацетилхоліну (формуються синаптичні пухирці і активні зони, зростає число мітохондрій). Реструктуризація пресинаптичних відділів супроводжується формуванням синаптичних складок з субсинаптичними утвореннями.

Репаративна регенерація спостерігається і в нервово-м'язових веретенах. В саркоплазмі ІФМВ відбувається інтенсивне утворення молодих мітохондрій, міофібрил і їх формування з числа новосинтезованих міофіламентів. Більшість міосателітоцитів знаходяться в тісному зв'язку з ІФМВ, а наявність в їх цитоплазмі значної кількості мікропіноцитозних везикул дає підстави стверджувати про те, що в даному випадку вони приймають участь в трофічному забезпеченні ІФМВ. В сенсорних закінченнях наростає число нейровезикул і мітохондрій, відбувається репарація пошкоджених розгалужень аферентних аксонів. Рекреаційні заходи сприяють відновленню моторної інервації ІФМВ. При цьому аксом'язові синапси набувають типової будови, але термінальна аксоплазма містить ще мало синаптичних пухирців.

Відновлення росту МВ супроводжується нормалізацією тонуусу як артеріальних, так і венозних відділів мікроциркуляторного русла, регенерацією ендотелію, наростанням кількості еластичних волокон в артеріолах. Поява на аблюмінальній поверхні ендотеліоцитів бруньок росту свідчить про те, що відновлення розвитку скелетних м'язів тісно пов'язано з вторинним ангиогенезом.

В період з 15 до 30 доби відновлення наростання маси м'язової тканини здійснюється в основному за рахунок диференціації молодих МВ, джерелом розвитку яких в цей період є як міосателітоцити, так і м'язові мікробруньки. Останні утворюються внаслідок фрагментації деякої частини МВ, не здатних адаптуватися до фізичних навантажень. Об'єднуючись з міосателітоцитами шляхом утворення щільних контактів і десмосом, вони дають початок розвитку вторинних МВ. На 30 добу дефіцит діаметру МВ при відновленні в умовах звичайної рухової активності зменшувався і складав 10,1% ($25,5 \pm 0,7$ проти $28,5 \pm 0,6$ мкм в нормі; $P < 0,01$), а при її стимулюванні — 7,7% ($26,3 \pm 0,3$ проти $28,5 \pm 0,6$ в нормі; $P < 0,01$). Разом з цим зростала абсолютна кількість МВ, але контрольних величин не досягала. Дефіцит залишався достовірним і складав 22,7% при звичайній руховій активності і 17,9% за умов фізичних навантажень.

Для моторної інервації в даний період відновлення характерним є спраутинг аксонів в ділянці вузла нервового волокна, який забезпечує формування нервово-м'язових закінчень вторинних м'язових волокон. В ділянці конусів росту розміщуються клітини, які за їх ознаками можна віднести до проміобластів, а також фіброцити або їх відростки. При підростанні аксонів до м'язових трубок проміобласти пенетрують сарколему і після демонтажу цитолемі їх ядра розміщуються в субсинаптичній ділянці синапса. В нервово-м'язових закінченнях первинних МВ зростає довжина терміналей і число їх вторинних розгалужень, особливо при стимулюванні рухової активності. На ультраструктурному рівні зафіксовано збільшення кількості синаптичних пухирців. Синаптичні складки знаходяться в стані динамічної перебудови.

Протягом 30 діб повністю відновлюється структура нервово-м'язових веретен. Поряд з цим із числа м'язових трубок відбувається закладка вторинних веретен. У внутрішньом'язових артеріолах і збиральних венулах спостерігається добре виражена внутрішня і зовнішня еластичні мембрани, суцільна ендотеліальна вистілка. У тварин, які виконували фізичні навантаження (ФН), відбувається потовщення м'язового шару в артеріолах. Гемокапілярна сітка приймає органоспецифічну будову, зростає її густина, відновлюються ендотеліально-м'язові контакти, а разом

з ними і мікрівіброгемонасосна функція МВ.

Звичайна рухова активність протягом 60 діб не забезпечує МВ рівня розвитку контрольних тварин. Дефіцит діаметру і кількості МВ складав відповідно 14,6% і 11,7% (табл. 7). Завдяки ФН діаметр МВ досягав контрольних величин, а їх кількість була більшою на 26,9% (табл. 7). За даних умов у всіх фенотипах МВ міофібрили, саркоплазматична сітка і Т-система досягають високого ступеня диференціації, відбувається інтенсивне утворення мітохондрій шляхом пучкування. В перинуклеарному просторі відбувається активний синтез міофіламентів, з яких формуються вторинні міофібрили. Що стосується МСЦ, то їх структурно-метаболічні перетворення знаходяться в повній залежності від стану МВ. За умов, коли МВ зазнають значних пошкоджень, внаслідок виснаження адаптивних процесів, МСЦ виселяються в інтерстицій; при інтенсивному утворенні вторинних міофібрил вони залишаються під базальною мембраною МВ, в їх цитоплазмі зростає число рибосом, розширюються цистерни і каналці пластинчатого комплексу; за умов репаративних явищ в МВ МСЦ стають джерелом поповнення міомер.

ФН і підвищена функція МВ протягом 60 діб відновлення викликає вторинний спраутинг рухових аксонів, який приводить до утворення великих за площею і складних за архітектонікою нервово-м'язових закінчень ($683,5 \pm 44,7$ проти $596,8 \pm 37,5$ мкм² в нормі; $P < 0,05$). На ультраструктурному рівні встановлено появу багаточисельних синаптичних складок з вторинними розгалуженнями.

Для нервово-м'язових веретен специфічним є потовщення сполучнотканинної капсули за рахунок збільшення шарів клітин фібробластичного ряду, зростання об'єму і кількості ядер в ІФМВ, розростання сенсорних терміналей гроноподібних сенсорних закінчень, в яких спостерігається багато нейрофіламентів, мітохондрій і везикулярних структур. Кінцеві рухові пластинки ІФМВ мають типову структуру.

У мікросудинах (особливо в гемокапілярах) ендотеліоцити мають гетерогенну структуру. Одні темні, сплющені, інші світлі і набряклі з великою кількістю піноцитозних везикул у цитоплазмі. В артеріолах спостерігається гіпертрофія гладких міоцитів. Що стосується посткапілярних збиральних венул, то їх ендотеліоцити також мають різну електронну щільність, але набряк відсутній. Значна кількість обмінних мікросудин розміщується в глибоких ложах, утворюючи тісні мікрівіброгемонасосні контакти з МВ. Поряд з цим спостерігається каналізація ендотеліальних бруньок і, як результат, формування гемокапілярів, які мають ще дуже малий діаметр внутрішнього провіту (3-4 мкм).

Таблиця 7.

Діаметр та кількість МВ в прямому м'язі стегна на різних стадіях рекреаційних заходів після 60 діб гіпокінезії (n = 5)

Статистичні показники	Гіпокінезія		Тривалість відновлення в добах								
	60 діб		15			30			60		
	Контроль	Дослід	Контроль	ЗРА	ФН	Контроль	ЗРА	ФН	Контроль	ЗРА	ФН
Діаметр МК, кмк											
M	22.9	15.7	23.6	18.9	19.3	28.5	25.5	26.3	31.5	26.9	29.9
m	0.7	0.4	0.6	0.6	0.7	0.6	0.7	0.3	0.6	1.1	1.0
P	—	<0.001	—	<0.001	<0.001	—	<0.01	<0.01	—	<0.01	>0.5
Кількість МВ											
M	4038.0	2864.0	3782.7	2725.4	2850.3	4075.4	3150.2	3342.1	3916.2	3457.5	4389.4
m	313.0	126.0	273.5	182.7	157.2	234.5	174.5	185.5	210.1	162.4	137.1
P	—	<0.01	—	<0.01	<0.01	—	<0.01	<0.01	—	<0.05	<0.05

Пластичність м'язових волокон в умовах гіперфункції

Даний експеримент був проведений з метою перевірки гіпотези дисконтинуїтету — формування клітинної бази міогенної тканини з неклітинної (міосимпластичної) фази (Студитский А.Н., 1959; Reznik M., 1973; Елякова Г.В., 1975).

Після завершення місячного циклу тренування маса прямого м'яза стегна зростає на 13,7% ($0,215 \pm 0,04$ проти $0,189 \pm 0,003$ г в нормі; $P < 0,05$). Ультроструктурний аналіз гіпертрофованого м'яза показав, що в МВ відбувається інтенсивне розщеплення міофібрил, гіперплазія мітохондрій, зростає кількість каналців саркоплазматичної сітки, рибосом і гранул глікогену. По периферії МВ, в околицях міоядер формуються нові міофібрили з міофіламентів, які у значних кількостях хаотично розміщені в саркоплазмі. При цьому активуються міоядра, які, як правило, мають по два ядрця і чисельні інвагінації каріолеми. Одночасно спостерігається активне виселення МСЦ 2-го типу в інтерстицій і активація їх проліферативної активності. Що стосується МСЦ 1-го типу, то вони в значній кількості інкорпуються в МВ, забезпечуючи збільшення числа міоядер. Нерідко можна зустріти двоядерні МСЦ. В цілому МСЦ, які знаходяться під базальною мембраною гіпертрофованих МВ, мають потужний синтетичний апарат, який представлений рибосомами і полірибосомами, зернистою ендоплазматичною сіткою з розширеними трубочками і цистернами.

На фоні вище описаних ознак гіпертрофованих функціонів (м'язове волокно/міосателітоцити) в цілому ряді МВ можна бачити значні мікротериторії, де відбувається лізис міофібрилярного апарату. Цей процес може охоплювати мікротериторії площею 15-25 μm^2 . В ділянки лізису МВ мігрують міоядра, які знаходяться, очевидно, на самому початку проліферативної ланки функціонально різних міоядер. Поява ядер в ділянках лізису МВ і їх реактивація запускає механізм сегрегації даної мікротериторії з допомогою елементарної мембрани. Подальший розвиток сегрегованої ділянки з міоядром пов'язаний з утворенням і диференціацією цитоплазматичних органел: мітохондрій, вільних рибосом і полірибосом, зернистої і незернистої ендоплазматичної сітки, тобто здійснюються процеси, які характерні для періоду розвитку і диференціації клітини. На даному етапі нам вдалося прослідкувати динаміку розвитку мітохондрій в проклітинному утворенні. Поблизу елементарної мембрани формуються мікротільця, які завдяки емперіполезісу (Шахламов В.А., Битнер Е.Г., 1992) переміщуються в цитозоль проклітинного утворення. Включені мікротільця мають двомембранний контур, який складається з власної мембрани і фрагменту плазмолемі. Наступна еволюція мікротілець пов'язана з утворенням матриксу і крист.

На стадії 3-5 крист зовнішній мембранний контур розплавляється і молоді мітохондрії вступають в тісний контакт з цитозолем проклітинного утворення.

В період активного утворення органел в цитоплазмі спостерігається значна кількість трофічних включень у вигляді альфа- і бета-частинок глікогену, який депонується поблизу незернистої ендоплазматичної сітки. Новоутворення органел відбувається при активній взаємодії ядра і цитоплазми. Завдяки цій взаємодії новоутворений МСЦ інтенсивно розвивається і на відповідному етапі має добре диференційовані цитоплазматичні включення. В наступний період розвитку МСЦ мігрує від базальну мембрану МВ, де остаточно завершується його структурно-функціональне дозрівання і, як результат, з'являється клітина-сателіт, яку за ультраструктурними ознаками неєобхідно віднести до МСЦ 2-го типу.

Отримані результати підтверджують гіпотезу про можливість розвитку МСЦ із структурних елементів МВ.

Висновки

1. Ріст, диференціація і фізіологічна регенерація м'язових волокон в постнатальному онтогенезі протікають в тісній єдності сипластичних утворень і міосателітоцитів, які є поліфункціональними клітинами. При цьому диференціація міонів представляє собою синхронізовану ультраструктурну перебудову скорочувального апарату і забезпечуючих структур, фенотипічні особливості яких регулюються як міогенними, так і нейрогенними факторами.

2. Субмікроскопічне дослідження показало, що структурною основою екстракардіального мікрогемонасосного ефекту на рівні системи гемокапіляр — м'язове волокно є ендотеліально-м'язові комплекси, які забезпечують синхронізацію цитомембрани ендотеліоцитів і м'язових волокон.

Вібронасосний ефект присмоктування і нагнітання крові діє також завдяки суворій орієнтації гемокапілярів відносно м'язових волокон і специфічній архітектоніці капілярного ложа.

3. Важливим фактором в розвитку і диференціації скелетних м'язів є нервово-м'язові взаємодії. Кожен фенотип м'язових волокон має нервово-м'язові закінчення з заданими характеристиками (патерн розгалуження рухового аксона, кількість і площа активних зон, число синаптичних складок і синаптичних везикул). Значною мірою програма росту і диференціації м'язової тканини моделюється нервово-м'язовими веретенами, які в постнатальному онтогенезі зазнають як кількісних, так і якісних перетворень.

4. Тривала гіпокінезія в ранньому постнатальному онтогенезі,

при раціонально організованому харчуванні не викликає втрати маси тіла, але повністю зупиняє фізіологічний ріст тварин. При цьому виражений дефіцит маси скелетних м'язів зумовлений як затримкою росту, так і дегенеративно-атрофічними явищами з боку м'язових волокон. Адаптаційна стійкість останніх до патогенетичного впливу гіпокінезії носить гетерогенний характер і залежить від фенотипічних особливостей ультраструктурної організації міонів.

Проведений стереологічний аналіз дозволяє стверджувати, що деструкція скорочувального апарату і атрофія міонів при гіпокінезії зумовлена глибокою дезагрегацією структурних основ окисного фосфорилування, екзоцитозу ацетилхоліну і прогностичних нейротрофінів, розбалансування ендотеліально-м'язових комплексів на рівні мікросистеми гемокапіляр — м'язове волокно.

5. Порівняння даних морфологічних досліджень м'язової тканини і характеру ізоферментного спектру ЛДГ свідчить про те, що збільшення питомої ваги важких фракцій має пряме відношення до розвитку атрофії і дистрофічних процесів в скелетних м'язах.

Патогенетичний вплив гіпокінезії на скелетні м'язи також зумовлений переключенням енергозабезпечення з вуглеводного шляху на жировий, інтенсифікацією перекисного окислення ліпідів.

6. Пусковим механізмом розвитку синдрому гіпокінезії є ультраструктурна реорганізація нервово-м'язових веретен, яка призводить до спотворення і зменшення аферентної імпульсації і, як результат, до дедиференціації м'язових волокон.

Перехід міонів в пластичний стан супроводжується активізацією камбіальних клітин м'язової тканини — міосателітоцитів, формуванням м'язових бруньок, новоутворенням клітин-сателітів за участю міоядер, що створює передумови для репаративної регенерації шляхом вторинного міогістогенезу.

7. Гальмуючий ефект гіпокінезії на ріст тварин, розвиток і диференціацію скелетних м'язів є зворотним за умов відновлення рухової активності. При цьому субмаксимальні фізичні навантаження прискорюють реалізацію генетичної програми росту і диференціації скелетних м'язів, забезпечуючи не тільки відновлення, але й нагромадження структурно-функціонального потенціалу міогенних і нервово-судинних компонентів.

8. Утворення нових м'язових волокон при відновленні росту скелетних м'язів відбувається як за рахунок м'язових бруньок, так і завдяки вторинному міогістогенезу, який подібний до ембріонального, про що свідчить мітотичне ділення міосателітоцитів, їх виселення в інтерстиціальну тканину і трансформація в міобласти з наступним утворенням м'язових трубок і диференціацією їх в м'язові волокна.

9. Важливим фактором у відновленні росту м'язових волокон і їх репаративній регенерації є нормалізація аксон-нейролемоцитних взаємовідношень і реінервація міонів з допомогою вторинних аксом'язових синапсів. Реінервація міонів і генезис нових нерво-м'язових закінчень в умовах відновлення росту скелетних м'язів і вторинного міогістогенезу після гіпокінезії є проявом координованої у часі і просторі взаємодії процесів репаративної регенерації і гістогенезу м'язової і нервової тканин.

10. Відновлення росту, репаративна регенерація і новоутворення м'язових волокон в скелетних м'язах після припинення репресивного впливу гіпокінезії відбувається в тісній єдності з відновленням структурно-функціонального потенціалу нерво-м'язових веретен і закладкою нових рецепторів з числа вторинних м'язових трубок.

11. В процесі реадаптації до рухової активності відновлюються структурна і органоспецифічна диференціація гемомікроциркуляторного русла скелетних м'язів, ультраструктурні основи м'язових мікронасосів-вібраторів — ендотеліально-м'язові контакти. Фізичні навантаження призводять до нагромадження матеріальних субстратів демпферних механізмів, які об'єднують м'язові волокна і кровоносні капіляри в єдиний вібронасосний комплекс.

12. Правильно підібрані фізичні навантаження за об'ємом і інтенсивністю є ефективним протекторним засобом проти репресивного впливу гіпокінезії на ріст і диференціацію скелетних м'язів, засобом профілактики нерво-м'язових і гемодинамічних розладів.

13. Вивчення ультраструктурних основ пластичності м'язової тканини в умовах гіпокінезії і фізичних навантажень дали можливість підтвердити гіпотезу дисконтинуїтету (формування клітинної бази міогенної тканини з міосимпластичної фази), розкрити морфологічний механізм розвитку міосателітоцитів із складових частин поперечно-смугастого м'язового волокна у вищих хребетних.

Список публікацій за темою дисертації

1. Морфометрическая характеристика нервно-мышечных веретен гипертрофированной скелетной мышцы // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1986. — Т. 102, № 11. — С. 615-617. (Співавт. Мельман Е.П.).

2. Морфометрический механизм развития миосателлитоцитов из структурных элементов мышечного волокна при повышенной функциональной активности скелетных мышц // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1993. — Т. 116, № 8. — С. 208-210. (Співавт. Шутка Б.В., Шахламов В.А., Мицкан М.А.).

3. Вплив рухової активності на відновлення росту скелетних м'язів після гіпокінезії // Доповіді АН України. — 1993. — № 6. — С. 156-162. (Співавт. Зербіно Д.Д., Шутка Б.В., Мицкан М.А.).
4. Міосателітоцити в постнатальному онтогенезі і при адаптації скелетних м'язів до гіпер- і гіпокінезії // Лікарська справа. — 1994. — № 5-6. — С. 58-63. (Спіавт. Шутка Б.В., Мицкан М.А.).
5. Ультроструктурна реорганізація аксом'язових синапсів при гіпокінезії // Вісник наукових досліджень. Міжнар. науковий журнал. — 1995. — № 2. — 14 с.
6. Механізми росту і диференціації скелетних м'язів в постнатальному онтогенезі // Вестник проблем биологии и медицины. — 1997. — № 3. — С. 13-20.
7. Аксон-нейролемоцитні взаємовідношення в еферетних нервових волокнах при гіпокінезії // Галицький лікарський вісник. — 1996. — Т. 3, № 2. — С. 62-64.
8. Структурний слід адаптації скелетних м'язів до фізичних навантажень і його захисні ефекти проти репресивного впливу гіпокінезії // Галицький лікарський вісник. — 1996. — Т. 3, № 2. — С. 58-61.
9. Мікроциркуляторне русло нервово-м'язових веретен камбалоподібного м'язу // Ангіологія: Монотематичний збірник наукових праць. — Івано-Франківськ. — 1991. — С. 77-78.
10. Адаптація гемомікроциркуляторного русла скелетних м'язів до довготривалої гіпокінезії // Там же. С. 79-80. (Співавт. Шутка Б.В.).
11. Механизмы нарушения пластичности поперечно-полосатой мышечной ткани в условиях ограничения двигательной активности // Возрастная и экологическая морфология животных в условиях интенсивного животноводства: Сборник научных трудов. — Ульяновск, 1987. — С. 103-104.
12. Влияние физической тренировки на адаптацию скелетных мышц к гипокинезии // Новости спортивной и медицинской антропологии: Ежеквартальный научно-информационный сборник. — М., 1991. — Вып. 2 (6). — С. 31. (Співавт. Шутка Б.В.).
13. Скелетные мышцы и гипокинезия // Биология опорно-двигательного аппарата: Материалы школы. — Харьков, 1992. — С. 205-206. (Співавт. Криницький С.С., Даниловський Л.Б.).
14. Влияние двигательной активности на восстановление скелетных мышц после гипокинезии // Там же. С. 207-208. (Спіавт. Шутка Б.В., Мицкан М.А.).
15. Реакція волокон скелетних м'язів на гіпокінезію, поєднану з фізичними навантаженнями // Матеріали I Всеукраїн. науково-практичної конференції "Здоров'я і освіта". — Львів, 1993. — Ч. II. — С. 173-175. (Співавт. Криницький С.С., Мицкан М.А.).

16. Вплив гіпокінезії і рухової активності на ріст і диференціацію скелетних м'язів // Мат. I Міжнародного конгресу з інтегративної антропології: Збірник наукових робіт. — Тернопіль, 1995. — С. 242-243. (Співавт. Шутка Б.В., Мицкан М.А.).

17. Современное представление о строении нервно-мышечных веретен нормальной и гипертрофированной скелетной мышцы // Институт эволюционной морфологии и экологии животных им. А.Н.Северцова АН СССР. — М., 1986. — 6 с. Статья деп. в ВИНТИ, 23.06.86. — № 4596-В86. — 1986.

18. Изучить динамику нейро-сосудисто-тканевых взаимоотношений в скелетных мышцах при дефиците мышечной активности и в восстановительном периоде после гипокинезии в эксперименте: Отчет о НИР (заключ) / Ивано-Франк. гос. мед. ин-т; Руководитель Мыцкан Б.М. — ГР 01860070955; 177 с. — Библиогр.: 100 назв. // Сборник НИР и ОКР. — 1991. — Серия 8, № 7. — С. 31.

19. Патогенное влияние гипокинезии на изоферментный спектр ЛДГ, мышечные волокна и нейро-сосудистое обеспечение скелетных мышц // Научно-технический прогресс, охрана окружающей среды, фундаментальные проблемы медицины и биологии. — Полтава, 1988. — С. 222-223.

20. Відновлення маси тіла, серця і скелетних м'язів після довготривалої гіпокінезії // Тези обласної науково-практичної конф. — Івано-Франківськ, 1989. — С. 83-84. (Співавт. Даніловський Л.Б., Криницький С.С.).

21. Морфобіохімічна характеристика дисфункціональної атрофії скелетних м'язів // Возрастные, адаптивные и патологические процессы в опорно-двигательном аппарате. — Харьков, 1988. — С. 129-130.

22. Гипокинезия и сердце // Структурно-функциональные единицы и их компоненты в органах висцеральных систем в норме и патологии. — Харьков, — 1991. — С. 177.

23. Морфобіохімічна характеристика атрофії скелетних м'язів при гіпокінезії // Структурно-енергетичне забезпечення механічної роботи м'язів: Тез. Всеукраїн. симпозіума. — 1990. — С. 55-56. (Співавт. Шутка Б.В.).

24. Ультраструктура внутрішньом'язових мікробіогемонасосів при гіпокінезії // Актуальні питання морфології: Тези доп. I Національного конгресу АГЕ. — 1994. — С. 121. (Співавт. Мицкан М.А.).

25. Реакція нервово-м'язових синапсів на гіпокінезію, поєднану з фізичними навантаженнями // Тези доп. Всеукраїнської науково-практичної конф. "Актуальні проблеми фізичного виховання у вузі". — Донецьк, 1995. — С. 74-75. (Співавт. Мицкан М.А., Криницький С.С.).

26. Значення ізоферментів ЛДГ для діагностики дистрофії скелетних м'язів при гіпокінезії. — Там же. — С. 75-76.

Мыцкан Б.М. Влияние гипокинезии и двигательной активности на рост и дифференциацию скелетных мышц.

Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.11 — эмбриология, гистология и цитология. Киевский университет имени Тараса Шевченко. Киев, 1997.

Защищается 26 научных работ, которые содержат данные о влиянии длительной гипокинезии на развитие скелетных мышц, дифференциацию дефинитивных фенотипов мышечных волокон и их иннервационно-сосудистый аппарат у нетренированных и адаптированных к физическим нагрузкам животных в раннем постнатальном онтогенезе. В диссертации также представлены данные об особенностях развития скелетных мышц в рекреационном периоде после длительной гипокинезии в условиях различных уровней двигательной активности и пластичности мышечных волокон при гиперфункции скелетных мышц.

Показано, что в основе дедифференциации и повреждения мышечных волокон при гипокинезии лежит разрушение структурных основ экзоцитоза ацетилхолина и прогностических нейротрофинов, ультраструктурная реорганизация нервно-мышечных веретен, дезинтеграция сосудисто-тканевых взаимоотношений, переключение мышечной ткани с углеводного обмена на жировой, интенсификация перекисного окисления липидов. Установлено, что структурный след адаптации к физическим нагрузкам обладает протекторными свойствами против репрессивного и патогенетического воздействия гипокинезии на миогенные и нервно-сосудистые элементы скелетных мышц. Тормозной эффект гипокинезии на развитие мышц является обратимым при условии восстановления двигательной активности. При этом субмаксимальные физические нагрузки ускоряют генетическую программу дифференциации мышечной ткани. Развитие скелетных мышц в рекреационном периоде есть проявление координированного во времени взаимодействия процессов репаративной регенерации и вторичного мио-, нейро- и ангиогенеза. Получены результаты, подтверждающие гипотезу о развитии миосателлитоцитов из структурных элементов мышечного волокна при переходе его в пластическое состояние при гипо- и гиперфункции.

Mytskan B.M. Effect of hypokinesia and the motor activity on the growth and differentiation of the skeletal muscles.

The manuscript of the thesis presented for a doctor's degree of biological sciences on speciality 03.00.11 – embryology, histology, cytology.

Kyiv University named after T.G.Shevchenko. Kyiv, 1997.

26 scientific abstracts contain the facts about the effect of prolonged hypokinesia on the growth of the skeletal muscles, differentiation of the definitive phenotypes of muscle fibers and their innervational vascular apparatus that untrained and adapted to physical exertions animals possess in early periods of postnatal ontogenesis.

In the thesis also represented the facts about the peculiarities of the development of skeletal muscles in the period of recreation after a prolonged hypokinesia in conditions of different levels of the motor activity and plasticity of muscle fibers during hyperfunction of the skeletal muscles. In the basis of differentiation and damaging of muscle fibers in the period of hypokinesia lies the ruining process of structural bases of acetylcholine and neurotrophic ingredients, ultrastructural reorganisation of nervous muscular spindles, transition of muscular tissue from carbohydrate metabolism on the fatty intensification of peroxide of fats have been shown. It have been determined, that structural mark of adaptation to the physical exertions possesses protectoral peculiarities against repressive and pathogenetical action of hypokinesia on muscular and nervous and vascular elements of skeletal muscles. An inhibitory effect of hypokinesia on the development of the muscles is reverse under the conditions of motor activity. In this case submaximal physical exertations accelerate realisation of the genetic program of muscular tissue differentiation. The development of the skeletal muscles in the period of recreation shows interaction of coordinative in time process of regeneration and myo, neuro and angiogenesis.

So, the results, confirming the hypothesis about the development of myosatellitocytes from the structural elements of the muscular fiber during the transition into plastical condition at the hypo and hyperfunction.

Ключові слова: гіпокінезія, рухова активність, м'язові волокна, нервово-м'язові закінчення, мікроциркуляторне русло, нервово-м'язові веретена, диференціація.

Mytshko, B.M. Effect of hypokinesia and the motor activity on the growth and differentiation of the skeletal muscles.

The manuscript of the thesis presented by a doctor candidate of biological sciences on specialty 03.02.11 - embryology, histology, cytology.

Kyiv University named after I.G. Shevchenko, Kyiv, 1997.

26 scientific abstracts contain the facts about the growth of prolonged hypokinesia on the growth of the skeletal muscles, differentiation of the definitive phenotypes of muscle fibers and their innervational vascular apparatus that untrained and adapted to physical exertions animals possess in early periods of postnatal ontogenesis.

In the thesis also represented the facts about the peculiarities of the development of skeletal muscles in the period of restoration after a prolonged hypokinesia in conditions of different levels of the motor activity and plasticity of muscle fibers during hyperactivity of the skeletal muscles in the basis of differentiation and disengaging of muscle fibers in the period of hypokinesia lies the causing process of structural basis of apoptosis and neurotrophic inhibition, ultrastructural reorganization of nervous muscular synapses, transition of muscular tissue from carbohydrate oxidation on the fatty intensification of peroxide of fats have been shown. It have been determined, that structural mark of adaptation to the physical exertions possesses postnatal peculiarities against regressive and pathogenetical action of hypokinesia on muscular and nervous and vascular elements of skeletal muscles. An inhibitory effect of hypokinesia on the fetal onset of the muscles is reverse under the conditions of motor activity. In the case submaximal physical exertions accelerate realization of the genetic program of muscular tissue differentiation. The development of the skeletal muscles in time aspects of regeneration and axon, nerve and angiogenesis.

So, the results regarding the hypothesis about the development of myofibrils under long the structural elements of the muscular fiber during the transition into plastic condition at the hypo and hyperactivity.

Замовник: Інститут фізіології, рухової активності, м. Івано-Франківськ, вулиця Митченка, 11/12. Директор Інституту: Руслан Петрович Білий. Контакт: 0362-22222.

AB3.0000

434938

AB 37.020