

УДК 591.8:577.151/.158

ГИСТОХИМИЧЕСКИ ВЫЯВЛЯЕМЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЦТК В НЕЙРОНАХ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КРЫСЫ В ДИНАМИКЕ ГИПОКИНЕЗИИ

Насибуллин Б.А.

УкрНИИ медицины транспорта, Одесса

Впервые поступила в редакцию 15.12.2005 г. Рекомендована к печати на заседании ученого совета НИИ медицины транспорта (протокол № 7 от 18.11.2006 г.).

Особенностью сегодняшнего этапа развития производства является снижение физических и двигательных нагрузок на организм человека (гипокинезия) [1]. Ограничение двигательной активности приводит к снижению нагрузки на опорно-двигательный аппарат и уменьшению гидростатического давления крови [1, 4, 6, 3]. Последнее может стать причиной гипоксии тканей.

Имеющиеся в доступной литературе данные показывают, что большинство клинических и экспериментальных исследований направлено на изучение изменений в гормональной, сердечно-сосудистой системах, опорно-двигательном аппарате [1-7], а также нарушений в разных составляющих метаболизма. Что касается изменений в ЦНС при гипокинезии, то сведения, имеющиеся в литературе довольно ограничены.

В то же время ЦНС - основная, высшая интегративная система организма и от состояния ее структурно-функциональной организации и метаболического обеспечения этой организации зависит качество материального носителя высших регуляторных функций ЦНС [8]. Следует отметить, что особенностью энергообразования в головном мозгу, как основы метаболического обмена, является преобладающее значение цикла Кребса. Однако состояние основных компонентов этого цикла в динамике гипокинезии остается практически не освещенным в доступной литературе.

Исходя из вышесказанного, целью нашей работы была гисто-химическая оценка изменения активности основных ферментов цикла Кребса в головном моз-

гу крыс в динамике длительной гипокинезии.

Материалы и методы

Материалом настоящего исследования послужили данные, полученные при исследовании 90 белых, беспородных крыс-самцов весом 160-180 г. В соответствии с задачами работы животные были ранжированы на 2 группы. Первую - 18 крыс составляли животные, содержащиеся в стандартных условиях вивария, данные, полученные при их изучении служили контролем. II группа - 72 крысы, которых содержали в клетках-пеналах размером 12x5,5x5 см в продолжении 1, 3, 7, 14, 21, 30 суток. Клетки-пеналы, как модель гипокинезии использовались в связи с тем, что другие способы ограничения движений (гипсование, фиксация-привязывание) вызывают стрессорное воздействие, что искажает результаты исследований. Животных выводили из эксперимента декапитацией. Извлекали головной мозг, из которого формировали блок, ориентированный на брегму. Материал фиксировали в жидком азоте (- 196 °С) и из полученных блоков изготавливали криостатные срезы толщиной 11 мкм. На полученных срезах определяли активность СДГ и МДГ по прописям [9]. Полученные препараты подвергали цитофотометрии при помощи приставки к микроскопу ЛЮМАМ-И.З. Использовали следующую шкалу активности:

А - слабая - 0 - 0,0254 у.е.о.п.

В - умеренная - 0,026-0,055 у.е.о.п.

С - высокая 0,055-0,075 у.е.о.п.

Д - очень высокая 0,08-0,1 у.е.о.п.

Разбивка у.е.о.п обусловлена деле-

нием шкалы используемого прибора. Определение активности исследуемых ферментов проводили в 150 нейронах в 5 полях зрения каждого препарата. Полученные данные усредняли и сводили в числовые ряды, аппроксимацией числовых рядов определяли векторную направленность их изменений, а преобразованиями Фурье - частотную характеристику этих изменений. На основании распределения нейронов по уровням активности, при помощи уравнения Байсса, оценивали вероятность изменения соотношений нейронов с разными характеристиками окислительно-восстановительных процессов.

Результаты и их обсуждение

Длительная гипокинезия вызывает

изменения усредненной активности исследуемых ферментов. Согласно данным таблицы 1, в верхних слоях СМК усредненная активность СДГ совершает, в динамике гипокинезии некоторые колебания, подчиняющиеся закономерности выражающейся формулой $Y=4,15+0,046/x-0,001/x^2$, где X - продолжительность гипокинезии, а Y - активность ферментов в у.е.о.п. Согласно данным той же таблицы 1, в нижних слоях СМК усредненная активность СДГ также подвергалась колебаниям в динамике экспериментальной гипокинезии, однако закономерности этого колебания были иными и выражались формулой $Y=4,1-0,001/x$.

Рассматривая изменения усреднен-

Таблица 1.

Динамика активности ферментов ЦТК в нейронах верхних и нижних слоев коры мозга крыс при длительной гипокинезии

Ферменты	Отдел коры	Контроль	1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки	20 сутки	30 сутки	Математическая зависимость
СДГ	ВС СМК	3,7±0,29	4,11±0,31	4,5±0,26	4,175±0,38	3,8±0,17	3,65±0,39	4,27±0,33	$Y=4,15+0,046x-0,001/x^2$
СДГ	НС СМК	3,1±0,15	4,18±0,18	4,46±0,21	3,84±0,21	4,0±0,37	3,7±0,27	4,22±0,34	$Y=4,1-0,001/x$
МДГ	ВС СМК	4,0±0,47	4,54±0,29	4,03±0,37	4,11±0,31	4,16±0,42	4,1±0,44	3,74±0,39	$Y=4,14+0,0007x-0,0004/x^2$
	НС СМК	3,86±0,38	4,5±0,41	4,02±0,40	3,7±0,31	4,2±0,36	4,1±0,40	3,98±0,45	$Y=4,0-0,003/x$

Таблица 2.

Распределение нейронов по субпопуляциям активности ферментов ЦТК в динамике длительной гипокинезии (%%)
А - слабая; В - умеренная; С - высокая; Д - очень высокая

Отделы коры	Ферменты	Уровень активности	Сроки опыта						
			Контроль	1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки	20 сутки	30 сутки
ВС СМК	СДГ	А	9,41	-	-	-	-	11,3	-
		В	40,0	51,2	41,8	52,7	49,5	75,2	45,6
		С	38,2	48,8	58,19	47,3	50,65	13,5	54,42
		Д	12,4	-	-	-	-	-	-
	МДГ	А	-	-	-	-	-	-	-
		В	39,5	41,4	44,7	46,9	41,6	72,0	28,9
		С	47,6	58,6	55,3	53,1	42,4	28,6	69,4
		Д	12,9	-	-	-	-	-	1,7
НС СМК	СДГ	А	7,2	-	-	-	-	11,6	-
		В	35,0	55,0	47,3	49,0	46,2	70,8	44,6
		С	47,3	45,0	52,7	51,0	53,8	17,6	55,4
		Д	10,5	-	-	-	-	-	-
	МДГ	А	17,8	-	-	-	-	-	-
		В	31,9	40,7	48,65	47,2	48,8	61,9	36,5
		С	50,9	59,7	51,35	52,8	51,2	38,1	63,5
		Д	-	-	-	-	-	-	-

ной активности МДГ в нейронах верхних слоев СМК, можно отметить колебания этого показателя, закономерность этих колебаний по характеру соответствует изменениям активности СДГ, однако коэффициенты в формуле другие, т.е. размах изменений другой. Аналогичная картина наблюдается при исследовании поведения активности МДГ в нейронах нижних слоев. Можно полагать, что разная функция показателей верхних и нижних слоев обуславливает разное поведение ферментов цикла Кребса в нейронах этих образований. Разный характер динамики активности ферментов цикла Кребса в верхних и нижних слоях СМК создает разницу в метаболическом обеспечении деятельности этих отделов, а, следовательно, несовпадение во времени активности этих структур (десинхроноз).

Изменение усредненной активности СДГ и МДГ тесно связано с изменениями размеров субпопуляций нейронов с разной активностью исследуемых ферментов. Подробно эти изменения отражены в таблице 2. Как следует из данных таблицы 2, у интактных животных популяция нейронов верхних слоев коры включала в свой состав субпопуляции нейронов всех основных уровней активности исследуемых ферментов. Популяция нейронов нижних слоев включала в свой состав 3 из 4-х возможных субпопуляций. В дальнейшем, в ходе эксперимента количество субпопуляций сокращается до двух. Лишь на 20-е сутки гипокинезии в верхних слоях СМК и на 30 - в нижних количество субпопуляций увеличивается до трех. При этом следует отметить, что размеры самих субпопуляций меняются в динамике гипокинезии.

Еще одной особенностью изменений размеров субпопуляций в нижних и верхних слоях СМК является несовпадение векторов этих изменений. Уменьшение количества субпопуляций нейронов с разными уровнями активности исследуемых ферментов позволяет полагать, что в динамике гипокинезии с одной стороны снижается энергопотребность головного мозга (отсутствие субпопуляции нейронов с высокой активностью ферментов), а с другой - снижается реактивный потенци-

ал популяции, т.к. уменьшается число вариантов исходной активности ферментов. При этом следует отметить, что характер изменений размеров субпопуляций нейронов с разной активностью исследуемых ферментов был, в отличие от усредненной активности, близким в нижних и верхних слоях сенсомоторной коры мозга крыс.

Выявленные изменения активности ферментов ЦТК, а также размеров субпопуляций нейронов с разной активностью исследуемых ферментов позволяют полагать, что в каждый момент времени в популяции присутствуют, в разных количествах нейроны, у которых активность СДГ и МДГ будет не одинакова или, наоборот, одинакова. Использование уравнения Байеса позволило нам установить вероятность присутствия в популяции нейронов с разными соотношениями СДГ и МДГ. Поскольку соотношение активности этих ферментов позволяет судить о направленности деятельности дикарбоновой части цикла Кребса, а это, в свою очередь, может отражать общее состояние процессов энергообразования. Результаты соответствующих вычислений приведены в таблице 3.

Как видно из данных таблицы 3 у интактных животных вероятно присутствие в верхних слоях коры нейронов одним из 4-х вариантов соотношений активности СДГ и МДГ. Наиболее вероятны нейроны с одинаковой активностью СДГ и МДГ, что можно расценивать как присутствие нейронов со сбалансированным ЦТК. Менее вероятны нейроны с преобладанием активности СДГ - очевидно в них активирована дикарбоновая часть ЦТК и несколько с преобладанием активности МДГ - в этих нейронах возможно имеет место инверсия дикарбоновой части цикла Кребса.

Что касается нижних слоев сенсомоторности коры, то, согласно данным таблицы 3, среди их нейронов более вероятны нейроны с одинаковой активностью СДГ и МДГ, т.е. клетки со сбалансированным циклом Кребса. Более вероятно присутствие нейронов с преобладанием активности МДГ, возможно присутствие клеток с двумя уровнями активности этого соотношения. Вероятность присутствия

Вариабельность содержания нейронов с разными формами активности ЦТК в СМК, по соотношению ферментов крыс при длительной гипокинезии*, **

Ферменты	Отделы коры	Варианты	Длительность гипокинезии						
			Контроль	1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки	20 сутки	30 сутки
СДГ:МДГ	ВС СМК	В:В	0,23	0,23	0,22	0,25	0,24	0,37	0,19
		С:С	0,37	0,27	0,28	0,25	0,26	-	0,31
		А:В	-	-	-	-	-	0,20	-
		В:С	0,19	0,27	0,24	0,27	0,25	0,20	0,21
		С:В	0,21	0,22	0,26	0,23	0,25	0,20	0,21
СДГ:МДГ	НС СМК	В:В	0,25	0,24	0,24	0,24	0,24	0,33	0,20
		С:С	0,23	0,26	0,26	0,25	0,26	-	0,29
		А:В	0,16	-	-	-	-	0,18	-
		В:С	0,19	0,29	0,25	0,23	0,24	0,29	0,27
		С:В	0,17	0,21	0,26	0,26	0,26	0,19	0,23

* А - слабая (0-1); В - умеренная (2-3); С - высокая (4-5); Д - очень высокая (6-7).

** - учитывались варианты с вероятностью > 0,15.

клеток с преобладанием активности МДГ над СДГ несколько меньше, чем в верхних слоях.

В динамике гипокинезии вариабельность соотношений исследуемых ферментов не менялась (4 варианта) в популяции нейронов верхних слоев СМК. Однако, вероятность присутствия нейронов с тем или иным соотношением СДГ:МДГ изменялась. Как следует из таблицы 3, в ходе эксперимента снижалась вероятность присутствия нейронов с одинаковой активностью СДГ и МДГ, в основном это происходило за счет снижения числа нейронов с высокой активностью исследуемых ферментов. В частности, на 20 сутки опыта п:вероятность количества нейронов с такой активностью не значимо. Достоверно возрастает вероятность присутствия нейронов с преобладанием активности МДГ над СДГ, более того на 20 сутки опыта это соотношение реализуется на двух уровнях активности ферментов. Вероятность присутствия нейронов с преобладанием активности СДГ над МДГ возрастает в ходе эксперимента, но менее существенно, чем нейронов с МДГ>СДГ. В целом получается, что гипокинезия сопровождается снижением вероятности присутствия нейронов со сбалансированным циклом Кребса и увеличением вероятности присутствия нейронов с активацией или инверсией дикарбоновой части этого же цикла.

Рассматривая изменения вероятности присутствия нейронов с разным соотношением

активности ферментов в популяции этих клеток в нижних слоях СМК, прежде всего следует отнести снижение вариабельности этих соотношений (в контроле 5 вариантов; у подопытных животных - 4).

Далее, согласно данным таблицы 3, в отличие о верхних слоев СМК, в нижних, в ходе эксперимента вероятность присутствия нейронов с одинаковой активностью СДГ и МДГ практически не меняется. Кроме того, как и в контроле, в ходе опыта это соотношение реализуется в 2-х уровнях активности.

В то же время вариабельность присутствия нейронов с соотношением разных активностей СДГ и МДГ снижается, обусловлено это тем, что соотношение СДГ<МДГ в ходе опыта определяется лишь в одном уровне активности, только на 20 сутки оно вновь реализуется в двух уровнях. Вероятность присутствия нейронов с соотношением СДГ<МДГ возрастает в ходе опыта.

В целом можно говорить, что вероятность присутствия нейронов со сбалансированным ЦТК при гипокинезии, в нижних слоях СМК не меняется., возрастает вероятность присутствия нейронов с активацией дикарбоновой его части и снижением - с инверсированной.

Таким образом, проведенные исследования показали, что длительная гипокинезия вызывает изменение активности ферментов цикла трикарбоновых кислот в нейронах СМК. Изменение усредненной

активности подчиняется определенным математическим закономерностям, которые близки по характеру разных ферментов, но в пределах одной из функциональных систем СМК (верхние или нижние слои) и разнятся для одного и того же фермента в разных функциональных системах. Установлено, что изменения усредненной активности обусловлены колебаниями количества и размеров субпопуляций нейронов с разной активностью исследуемых ферментов. Выявленные изменения активности определяют нарушение вероятности присутствия нейронов с тем или иным соотношением ферментов (СДГ:МДГ). В верхних слоях снижается вероятность присутствия нейронов со сбалансированным ЦТК и увеличивается - с инверсией его дикарбоновой части. В нижних слоях вероятность присутствия нейронов со сбалансированным ЦТК не меняется и снижается вероятность клеток с инверсией дикарбоновой части ЦТК. Выявленный разницей в изменениях активности ферментов ЦТК в верхних и нижних слоях СМК. может служить базой для установленного ранее десинхроза структурно-функциональных изменений в СМК при длительной гипокинезии. Сочетание обоих феноменов должно, на наш взгляд, существенно влиять на деятельность СМК, как высшего интегративного и регулирующего органа организма.

Литература

1. Коваленко Е.А., Гуревский Н.Н. - Гипокинезия // М., Медицина. - 1980. - 478 с.
2. Медведев О.С., Дугин С.Ф., Глуховцев Е.В. и др. - Различные гемодинамические механизмы гипертензионной реакции при иммобилизационном стрессе у кроликов и крыс. // Кардиология, 1992. - т. 31. - №8. - С. 68-72.
3. Мызников И.Л., Щербина Ф.А. - Центральная гемодинамика у моряков в длительном транширотном рейсе // Гигиена и санитария. - 2004. - №1. - С. 34-37.
4. Рахманов Р.С., Нестеренко А.В. - О роли двигательной-активной формы обучения в формировании образа жизни, сохранении и укреплении здо-

ровья школьников // Гигиена и санитария, 2006. - №2. - С. 43-45.

5. Смирнов К.В. - Пищеварение и гипокинезия // М., Медицина, 1990. - 224 с.
6. Ульяновский Л.С., Бунятян А.А., Бескровнова Н.Н. и др. - Нарушение сердечно-сосудистых функций при иммобилизационном трессе. - Вестник АМН СССР, 1996. - №7. - С. 85-85.
7. Ушаков И.Б., Колодин А.С., Чикова С.С., Зуева Т.В. Медицинские аспекты защиты здоровья окружающей среды от вредного воздействия факторов окружающей среды // Гигиена и санитария, 2005. - №6. - С. 29-34.
8. Дизрегуляторная патология (под ред. Г.Н. Крыжановского) // М., Медицина, 2002. - С. 43-53.
9. Ллойда К., Шмидт Р., Гроссау Н. - Гистохимия ферментов // Л., Медицина, 1982, 421 с.

Резюме

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ЦТК, ЩО ВІЯВЛЯЮТЬСЯ ГІСТОХІМІЧНО, В НЕЙРОНАХ СЕНСОМОТОРНОЇ КОРИ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ ГІПОКІНЕЗІЇ

Насибуллін Б.А.

На підставі даних, одержаних при дослідженні 90 білих безпородних щурів-самців встановлено, що тривала гіпокінезія супроводжується зміною активності ферментів циклу Кребса в нейронах кори мозку, яка виявляється гістохімічним методом. Зміни усередненої активності ферментів відбуваються відповідно до певних математичних закономірностей, які були однакові для різних ферментів у верхніх шарах кори та у нижніх шарах кори.

Коливання усередненої активності обумовлені змінами (зменшенням) кількості субпопуляцій нейронів кори з різним рівнем активності ферменту. Автор вважає, що ці зміни обумовлює зниження реакційної здатності популяції нейронів. Здійснюючи вірогідну оцінку поєднання активності досліджуваних ферментів в нейронах, автор показує, що в динаміці гіпокінезії змінюється вірогідність присутності нейронів з різними формами діяльності циклу Кребса. При цьому в нижніх і

верхніх шарах кори ці коливання не співпадали.

Автор вважає, що зміни, виявлені в ході дослідження, служать основою для десинхронізації діяльності функціональних показників кори мозку.

Summary

HISTOCHEMICALLY REVEALED CHANGES OF ENZYMES CTA ACTIVITY IN NEURONES OF RAT BRAIN SENSOMOTORIC CORTEX IN THE DYNAMICS OF HYPOKINESIA

Nasibullin B.A.

On the basis of the data received at research of 90 white not purebred male rats, author has established, that long state of hypokinesia is accompanied by changes of enzymes CTA activity in neurons of the brain cortex, revealed by the histochemical method. There is established, that all

observed changes of enzymes activity occur in accordance with certain mathematical laws which were identical to different enzymes in the top and in the bottom layers of brain cortex. Fluctuations of the average activity are caused by changes of the neuron subpopulations quantity with a different level of enzyme activity. Author suppose, that these changes are caused with reactionary opportunity decrease of neuron population. Carrying out a probable estimation of an activity combination of researched enzymes, author has showed, that the presence of neurons with different forms of activity is varied in dynamics of hypokinesia. Thus in the bottom and top layers of brain cortex fluctuations did not coincided. The revealed during the made research changes in enzymes activity, can form a basis for an estimation of a functional condition of a brain at hypokinesia.

УДК: 615.33:611.013.11.12:612 -092.9

МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ АДРИБЛАСТИНУ З МЕТОЮ МОДЕЛЮВАННЯ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ЯЄЧОК

Холодкова О.Л., Пихтєєв Д.М., Щербатюк А.Л.

Одеський державний медичний університет

Впервые поступила в редакцию 10.11.2006 г. Рекомендована к печати на заседании ученого совета НИИ медицины транспорта (протокол № 7 от 18.11.2006 г.).

Введення

Причиною чоловічого безпліддя можуть бути захворювання запального характеру, наприклад, простатовезикуліт, епідидиміт та ін., що широко розповсюджені серед чоловічого населення, які найчастіше піддаються несприятливим впливам навколишнього середовища, зокрема, токсичним діям, стійкість до яких у чоловіків набагато нижча ніж у жінок. Проте, гострі запальні захворювання не викликають порушення репродуктивної функції. Безпліддя у чоловіків виникає як наслідок антибіотикотерапії цих захворювань [1]. Відомо, що антибактеріальні препарати володіють токсичною дією на внутрішні органи (особливо на печінку), а також на репродуктивну систему (РС) [2, 3, 4]. Тому порушення сперматогенезу в наслідок токсичного ураження органів РС у чоловіків в цей час є дуже актуальною проблемою.

З одного боку, гострі запальні захворювання органів РС переходячи в хронічні форми призводять до безпліддя. З другого боку, антибактеріальна терапія також призводить до безпліддя. Т.ч. виникає необхідність пошуку засобів корекції наслідків такої терапії, наприклад, препаратами, що активують регенераторні механізми органів РС. З метою розробки засобів корекції або створення лікарських препаратів виникає необхідність в створенні експериментальної моделі токсичного ураження органів РС. Значною токсичною дією на РС володіють протипухлинні антибіотики, які приводять до атрофії яєчок. Найбільш широко розповсюдженим представником даної групи є адрибластин (доксо-