DOI 10.31718/2077-1096.20.2.114
УДК 612.135:612.176.4:613.73

Войтенко В. Л., Гуніна Л. М.

ЗМІНИ УЛЬТРАСТРУКТУРИ ТКАНИН ЛИТКОВОГО М'ЯЗУ ТА МІОКАРДА ПІД ВПЛИВОМ ФІЗИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Сумський державний педагогічний університет імені А. С. Макаренка
Національний університет фізичного виховання і спорту України, м. Київ

Тривалі фізичні навантаження викликають перебудови різних функцій та систем організму, що носять, як правило, пристосувальний характер і відбуваються на всіх рівнях структурної організації організму. Питання про зміни функціонального стану серцево-судинної системи і, особливо, мікроциркуляційної ланки кровообігу в нормі і за фізичних навантажень та їх зв'язок з ультраструктурними перебудовами в тканинах, клітинах і клітинних органелах залишається недостатньо з'ясованим. Метою дослідження була оцінка структурних перебудов у тканинах литкового м'язу та міокарду, які приводять до формування адаптаційних механізмів у відповідь на тривале фізичне навантаження. В експерименті з використанням електронно-мікроскопічного аналізу структурних компонентів тканин було досліджено зразки литкового м'язу та верхівки серця статевозрілих щурів-самців лінії Вістар масою 220-250 г при тривалому фізичному навантаженні. Показано, що тривале та інтенсивне фізичне навантаження викликає в організмі розвиток низки компенсаторно-пристосувальних реакцій, спрямованих на оптимізацію процесів мікроциркуляції, поліпшення кисневопостачання скелетних м'язів та міокарду, а також підтримання адекватного рівня метаболічних процесів. Детальна оцінка функціонального стану вказаних тканин необхідна для раннього виявлення ознак дезадаптації при постійних навантаженнях у спорті та запобігання формування патологічних станів.

Ключові слова: фізичні навантаження, ультраструктура, гіпергідратація тканин, функціональні капіляри, ендотеліальна дисфункція.

Роботу виконано в рамках НДР «Адаптаційні реакції організму на дію ендогенних і екзогенних факторів середовища» (№ держреєстрації 0116U008030).

Вступ

Під впливом занять спортом в організмі відбуваються морфологічні зміни, які забезпечують пристосування організму спортсмена до високих тренувальних і змагальних навантажень [2]. Тривалі фізичні навантаження (ФН) викликають перебудови різних функцій організму, особливості і ступінь яких залежать від інтенсивності, характеру рухової діяльності та тренованості. В основі розвитку тренованості, у свою чергу, лежить процес адаптації організму до фізичних навантажень.

Численні дослідження показали великі адаптивні можливості скелетних м'язів. При помірних навантаженнях м'язи збільшуються в об'ємі, в них покращується кровопостачання, відкриваються резервні капіляри. Гіперфункція м'язової системи є важливим компонентом більшості пристосувальних реакцій здорового організму і проявляється у людини при всіх видах фізичної роботи. Зміни в процесі систематичної м'язової роботи носять, як правило, пристосувальний характер і відбуваються на всіх рівнях структурної організації організму [14].

Фізичне навантаження прямо впливає на зміни структури як м'язової тканини, так і інших тканин організму та їхній функціональний стан [15]. Міокардіальна тканина, подібно тканині скелетних м'язів, під впливом систематичного виконання фізичних вправ збільшується в об'ємі, що підвищує функціональні можливості серця. Проте за умови систематичного виконання організмом тривалих навантажень великої інтенсивності може сформуватися вже не робоча, а патологічна гіпертрофія міокарду, яка знижує функціональні можливості цього органу та погіршує загальний стан організму**.**

Питання про зміни в серцево-судинній системі та, особливо, мікроциркуляційній ланці в нормі і при фізичних навантаженнях та їх зв'язок з ультраструктурними перебудовами в тканинах, клітинах і клітинних органелах до цього часу залишається недостатньо з'ясованим **[**16]. Вивчення морфофункціональних перебудов в клітинах міокарда є актуальним, оскільки дає змогу оцінити роль співвідношення механізмів активної та пасивної модуляції тканинного кровотоку у формуванні нашого розуміння процесів адаптації до тривалих фізичних навантажень.

Мета роботи

Оцінити структурні перебудови в тканинах литкового м'язу та міокарда, які приводять до формування адаптаційних механізмів у відповідь на тривале фізичне навантаження.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальні дослідження змін, котрі відбуваються при тривалому фізичному навантаженні (ФН) у тканині серця та тканині литкового м'язу, було проведено на базі відділу вивчення гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України у 20 статевозрілих щурів-самців лінії Вістар масою 220-250 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. ФН моделювали шляхом плавання тварин у підігрітій до 30-32^{0}С воді; висота водяного стовпа ста-

новила 80 см, що не дозволяло тваринам стояти на задніх лапах. Тритижневе щоденне плавання щурів протягом 30 хв у дослідній групі тварин проводили з додатковим навантаженням, яке підбирали індивідуально задля того, щоб швидкість споживання кисню досягала 70-75 % від VO_{2max} і характеризувала значення VO_2, після досягнення якої зростання інтенсивності ФН не було пов'язано з її подальшим збільшенням (±5 %) [17]. Контрольна група тварин складалася з 10 інтактних щурів, тобто за кількістю тварин контрольна та дослідна групи були репрезентативні.

По закінченні експерименту тварин декапітували під слабким ефірним наркозом, що, згідно біоетичних вимог відповідає Положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей" [18], та принципам Ґельсінської Декларації [3].

У морфологічних і морфометричних дослідженнях використовували зразки литкового м'язу та верхівки серця експериментальних тварин. Препарати для електронно-мікроскопічних досліджень виготовляли за загальноприйнятою методикою, котра включала фіксацію біологічного матеріалу при миттєвому - після отримання - внесенні зразків у забуферений 2,5% розчин глютарового альдегіду. Дофіксацію проводили за допомогою реактиву Колфілда (на основі 2 % OsO4, pH – 7,4), зневоднення здійснювали у спиртах зростаючої концентрації, абсолютному спирті та ацетоні з наступною заливкою в епон-аралдіт [5]. Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм контрастували за допомогою 1% розчину уранілацетату і розчину цитрату свинцю і переглядали в електронному мікроскопі ПЕМ-124с (Україна).

Оцінку значення середньої арифметичної (М) товщини гістогематичних бар'єрів (ГГБ) у литковому м'язі та міокарді (т) та їх окремих шарів проводили за принципом випадкового відбору зразків (по 80 при кожному впливі). Загальну кількість функціонуючих капілярів (ФК) визначали згідно до методики, запропонованій H. Hoppeler та співавт. [4, 10], на екрані електронного мікроскопа при малому збільшенні.

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою програми «Microsoft Excel» та «OriginPro» [8] з обчисленням середніх значень (М), помилки середнього (m). Рівень статистичної ймовірності міжгрупових відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Результати представляли як середнє значення ± похибка середнього (M±m), оскільки відповідно до критерію Шапіро-Уілка вони відповідали нормальному закону розподілу. Достовірність міжгрупових розбіжностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Результати вважали статистично значимими при $P<0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

При моделюванні фізичного навантаження в ультраструктурі тканини литкового м'яза щурів було виявлено збільшення ступеня гіпергідратації тканини, яке виражалося у набряку гістогематичного бар'єру з суттєвим збільшенням його середньої гармонічної товщини (зростання на 65,5%) за рахунок зростання перикапілярного простору (ПКП) на 50,0% та дещо більшою мірою - ендотеліальної устілки (ЕН) капілярів на 57,0% (Рис. 1).

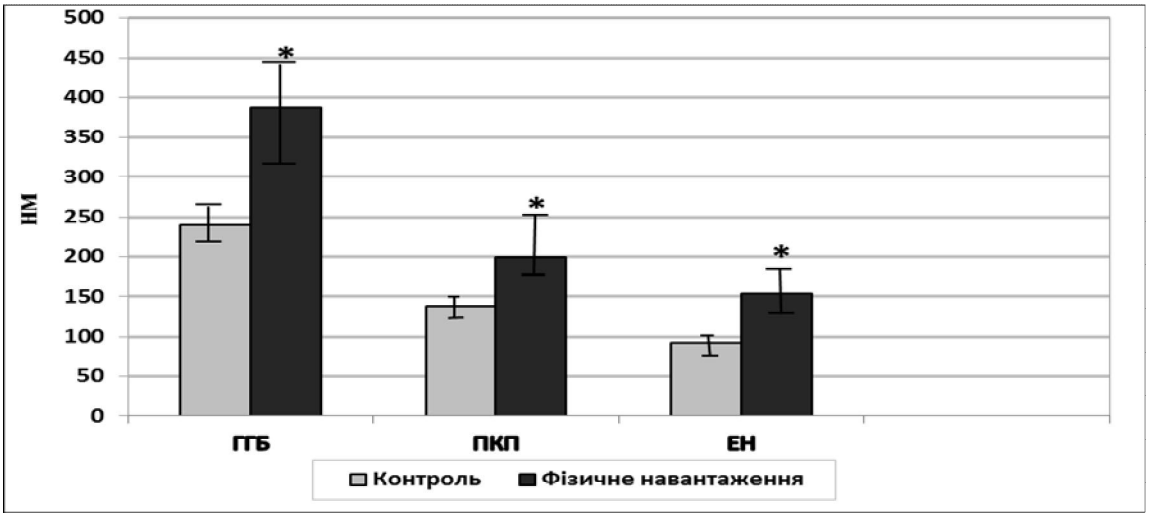

Рис. 1. Зміни середньої арифметичної товщини гістогематичного бар'єру в тканині литкового м'яза під впливом фізичного навантаження.

*Примітки: ГГБ - гістогематичний бар'єр, ПКП - перикапілярний простір, ЕН - ендотеліальна устілка капілярів. * - p<0,05 відносно контрольних значень.*

В ЕН спостерігали активацію піноцитозу з утворенням значної кількості піноцитозних везикул, що свідчить про посилення обмінних і транспортних процесів в клітині. Цей процес відносять до компенсаторної і, навіть, адаптивної реакції на несприятливі або напружуючі ендо- чи екзогенні фактори [11, 12]. Слід зазначити, що обидва вказані механізми окремо є адаптивни-

ми, однак у сполученні призводять до суттєвого збільшення дифузійного шляху для кисню при ФН, що супроводжується погіршенням його доставки до тканин організму і, відповідно, до формування проявів вторинної тканинної гіпоксії [9]. Поряд з вказаними змінами ультраструктури, мозаїчно спостерігали утворення вакуолей у м'язових волокнах, появу ділянок краєвого набряку клітин біля сарколеми, що вказує на наявність в м'язах проявів вторинної тканинної гіпоксії, а також формування ультраструктурного компоненту сарколемальної дисфункції, котра свідчить про порушення міжклітинного обміну речовин і рідини [6].

До адаптивних перебудов у тканині скелетного м'язу слід віднести й зміни його капіляризації. Після тримісячного фізичного навантаження середня кількість капілярів на одиницю площі м'язу зростала більше, ніж на 57% (Табл. 1).

Таблиця 1

Зміни капіляризації тканин литкового м'язу та міокарда при фізичному навантаженні (M±m)

Групи тварин	Кількість функціонуючих капілярів у тканині, од./мкм^2
Литковий м'яз	
Контрольна група (n=10)	15,6±1,9
1-а дослідна група (n=10)	24,5±2,7*
Міокард	
Контрольна група (n=10)	20,6±1,5
1-а дослідна група (n=10)	34,5±2,7*

*Примітки: * – p<0,05 відносно даних контрольної групи, ** – p<0,01 відносно даних контрольної групи*

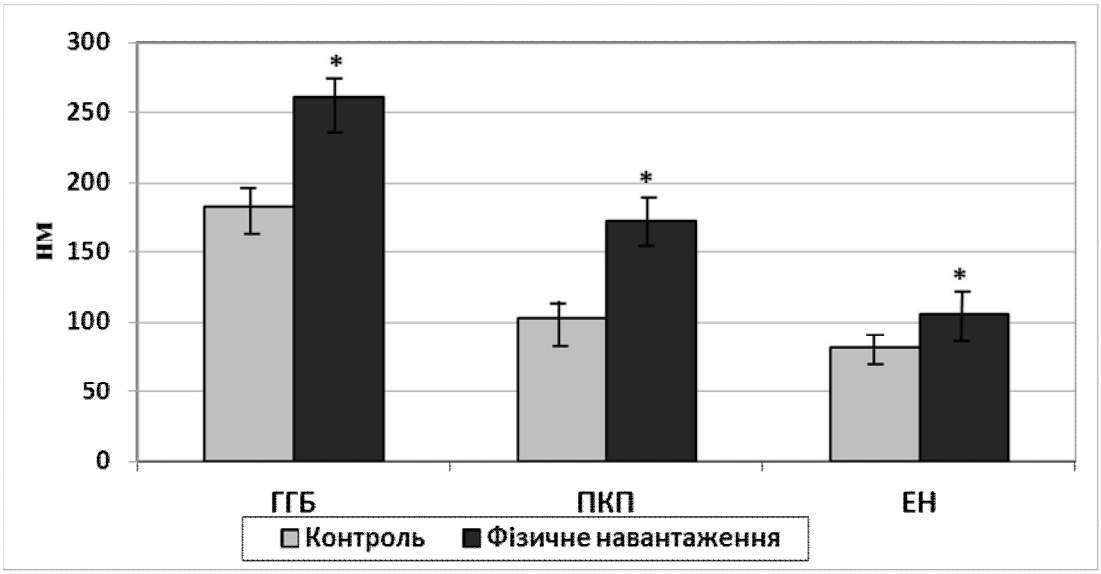

Рис. 2. Зміни середньої арифметичної товщини гістогематичного бар'єру в міокарді під впливом фізичного навантаження.

*Примітки: ГГБ - гістогематичний бар'єр, ПКП - перикапілярний простір, ЕН - ендотеліальна устілка капілярів. * - p<0,05 відносно контрольних значень.*

Практично не спостерігалося порожніх, а також спалих капілярів. Суттєве зростання кількості функціонуючих капілярів, на нашу думку, можна розглядати як ознаку первинного ангіогенезу, котрий є компенсаторною відповіддю на ФН [1].

Значна кількість змін ультраструктури міокарда після тривалого ФН подібна до перебудов, виявлених у тканині литкового м'язу, і відрізняється від них переважно ступенем вираженості. Так, гіпергідратація ГГБ у міокарді була меншою, ніж у відповідному бар'єрі м'язової тканини (Рис. 2).

Зростання значення середньої гармонічної товщини ендотеліальної устілки капілярів було відносно незначним і становило усього 23,3% (для порівняння – 67,7% у ГГБ литковому м'язі). Тобто, по-перше, менш вираженою була ультраструктурна складова ендотеліальної дисфункції, по-друге, шлях дифузії для O_2 зростав також значно меншою мірою, оскільки загальна товщина ГГБ, через який саме відбувається дифузія з крові до кисневоспоживаючих органел, в міокарді визначалася на 25,2% меншою, ніж у м'язовій тканині.

Щодо капіляризації тканини серця, то спостерігалося значне зростання кількості капілярів на одиниці площі (див. табл. 1). Збільшення кількості функціонуючих капілярів досягало 67,5% відносно контрольної кількості, що перевищувало величини, визначені у м'язовій тканині. Такі зміни призводять до суттєвого зростання інтенсивності кровообігу по мікроциркуляційному руслу та поліпшення енергозабезпечення скоротливої діяльності кардіоміоцитів за рахунок покращення киснепостачання тканини, що є надважливим для забезпечення працездатності організму при

ФН, в першу чергу, з аеробним механізмом енергозабезпечення. Збільшення обсягу капілярного кровообігу свідчить також про зростання кількості циркулюючих еритроцитів в капілярах міокарда, приріст кисневої ємності крові і, відповідно, зменшення тканинної гіпоксії у серцевому м'язі [13].

Оскільки екстракція кисню з крові, що притікає до міокарда, є дуже ефективною - якщо в середньому в організмі поглинається з крові до 30% кисню, то міокардом його екстрагується до 70-75% навіть в умовах відносного спокою. Будь-яке збільшення функціонального навантаження, що підвищує потреби міокарда в кисні, вимагає відповідного збільшення об'єму та/або швидкості коронарного кровообігу [7]. Надзвичайно важливим є збереження відповідності рівня коронарного кровотоку вимогам кисневої потреби міокарда. При зменшенні постачання серця кров'ю швидко порушується аеробний енергетичний метаболізм в міокарді і негайно погіршується скоротлива функція серцевого м'яза, що в подальшому значною мірою впливає на мітохондріальний апарат кардіоміоцитів.

Висновки

1. Збільшення гіпергідратації тканин скелетного та серцевого м'язів з активацією піноцитозу, що супроводжується посиленням обмінних і транспортних процесів у клітині, свідчить про розвиток компенсаторної і, навіть, адаптивної реакції на несприятливі або напружуючі ендо- чи екзогенні фактори.

2. Тривалі фізичні навантаження супроводжуються зростанням кількості функціонуючих капілярів, що можна розглядати як ознаку прискорення первинного ангіогенезу, який є компенсаторною відповіддю на фізичні навантаження.

Автори підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Література

1. Breen E, Tang K, Olfert M, Knapp A, Wagner P. Skeletal muscle capillarity during hypoxia: VEGF and its activation. High Alt Med Biol. Summer 2008;9(2):158-66. doi: 10.1089/ham.2008.1010.
2. Douglas J, Pearson S, Ross A, McGuigan M. Chronic Adaptations to Eccentric Training: A Systematic Review. Sports Med. 2017 May;47(5):917-941. doi: 10.1007/s40279-016-0628-4.
3. Gelsinska deklaratsiya Vsesvitnoyi medychnoyi asotsiatsiyi «Etychni pryntsypy medychnykh doslidzhen za uchastyu lyudyny u yakosti ob'yekta doslidzhennya» vid 01.06.1964 [Helsinki declaration of the world medical association "Ethical principles of medical research with human participation as an object of study" from 01.06.1964]. Available from: http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/990_005
4. Hoppler H, Vogt M. Muscle tissue adaptation to hypoxia. J. Experim. Biol. 2001 Sep;204(18):3133-9.
5. Karupu VYa. Elektronnaya mykroskopyya [Electron microscopy]. K.: Vyshcha shkola. 1984;208p. (Ukrainian).
6. Lee JHF, Boland-Freitas RK. Physiological differences in sarcolemmal excitability between human muscles. Muscle Nerve. 2019 Oct;60(4):433-6. doi: 10.1002/mus.26645.
7. Lipson KL, Fonseca SG, Urano F. Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and auto-immunity in diabetes. Current Molecular Medicine. 2006 Feb;6(1):71-7. doi: 10.2174/156652406775574613.
8. Osypov VP, Lukyanova EM, Antypkyn YuG, Chernyshov VP, Vykhovanets EV. Metodyka statystycheskoy obrabotky medytsynskoy ynformatsyy v nauchnykh yssledovanyyakh [Methods of statistical processing of medical information in scientific research]. K.: Planeta lyudey; 2002. 200 p. (Ukrainian).
9. Mankovska IM, Gavenauskas BL, Nosar VI, Nazarenko AI, Rozova KV, Bratus LV. Mezanizmy adaptatsiyi m'yazovoyi tkanyny do gipoksiyi navantazhennya za umov diyi intervalnoyi gipoksychnoyi gipoksiyi [Mechanisms of adaptation of muscle tissue to load hypoxia under conditions of interval hypoxic hypoxia]. Sportyvna medytsyna. 2005;1:3-11. (Ukrainian).
10. Mathieu-Costello O. Muscle adaptation to altitude: tissue capillarity and capacity for aerobic metabolism. High Alt Med Biol. 200l;2(3):413-25. doi: 10.1089/15270290152608598.
11. Palm W, Thompson CB. Nutrient acquisition strategies of mammalian cells. Nature. 2017 Jun;546(2): 234–42. doi: 10.1038/nature22379.
12. Palm W. Metabolic functions of macropinocytosis. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2019 Feb;374(1765):20180285. doi.org/10.1098/rstb.2018.0285.
13. Perrey S, Ferrari M. Muscle Oximetry in Sports Science: A Systematic Review. Sports Medicine. 2018 Mar;48(3):597–616. doi: 10.1007/s40279-017-0820-1.
14. Pidluzhna SA. Strukturna perebudova m'yazovoyi systemy pid vplyvom fizychnykh navantazhen [Structural restructuring of the muscular system under the influence of physical loads]. Metodychnyy posibnyk. Poltava; 2003. 18 p. (Ukrainian).
15. Rozova KV, Bolgova TV, Timoshenko KR, Vinnychuk YuD, Gunia LM, Bezugla VV. Restructuring of tissues of skeletal muscles, lungs and hearts of rats under conditions of load hypoxia in experiment. Physiol J. 2016;62(6):72-80. (Ukrainian).
16. Rozova KV, Tymoshenko KR, V'yunytskyy VP, Byelikova MV, Sydoryak NG. Osoblyvosti strukturnykh zmin u tkanyni lytkovogo m'yaza ta miokardi i pokaznykiv mikrotsyrkulyatsiyi krovi pry dozovanomu fizychnomu navantazhenni u tvaryn z riznym stupenem trenovanosti [Features of structural changes in the tissue of the calf muscle and myocardium and blood microcirculation during dosed exercise in animals with varying degrees of training]. Fiziol. zhurn. 2019;65(4):20-30. (Ukrainian).
17. Vilmor DzhX, Kostill DL. Fiziologiya sportu [Physiology of sport]. K.: Olimpiyska literature; 2003. 655 p. (Russian).
18. Yevropeyska konventsiya pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuyutsya dlya doslidnykh ta inshykh naukovykh tsiley vid 18.03.1986 [European convention for the protection of vertebrate animals used for research and other scientific purposes 18.03.1986]. Available from: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137

Реферат

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ТКАНЕЙ ИКРОНОЖНЫХ МЫШЦ И МИОКАРДА ПОД ВЛИЯНИЕМ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Войтенко В. Л˙, Гунина Л. М.

Ключевые слова: физические нагрузки, ультраструктура, гипергидратация тканей, функциональные капилляры, эндотелиальная дисфункция.

Длительные физические нагрузки вызывают перестройки различных функций и систем организма, носящих, как правило, приспособительный характер и происходят на всех уровнях структурной организации организма. Вопрос об изменениях функционального состояния сердечно-сосудистой системы и, особенно, микроциркуляторного звена кровообращения в норме и при физических нагрузках и их связь с ультраструктурными перестройками в тканях, клетках и клеточных органеллах остается недостаточно выясненным. Целью исследования было оценка структурных перестроек в тканях икроножной мышцы и миокарда, которые приводят к формированию адаптационных механизмов в ответ на длительную физическую нагрузку. В эксперименте с использованием электронно-микроскопического анализа структурных компонентов тканей были исследованы образцы икроножной мышцы и верхушки сердца половозрелых крыс-самцов линии Вистар массой 220-250 г при длительной физической на-

грузке. Показано, что длительная и интенсивная физическая нагрузка вызывает в организме развитие ряда компенсаторно-приспособительных реакций, направленных на оптимизацию процессов микроциркуляции, улучшение снабжения кислородом скелетных мышц и миокарда, а также поддержание адекватного уровня метаболических процессов. Подробная оценка функционального состояния указанных тканей необходима для раннего выявления признаков дезадаптации при постоянных нагрузках в спорте и предотвращения формирования патологических состояний.

Summary

CHANGES IN ULTRASTRUCTURE OF CALF MUSCLE AND MYOCARDIUM UNDER PHYSICAL LODADING IN EXPERIMENT
Voitenko V. L., Gunina L.M.
Key words: physical exertion, ultrastructure, tissue hyperhydration, functional capillaries, endothelial dysfunction.

Long-term physical activity causes restructuring in the various functions and systems of the body, which are, as a rule, adaptive in nature and occur at all levels of the structural organization of the body. The question of changes in the functional state of the cardiovascular system and, especially, the microcirculatory section of the circulatory system in normal and under the physical exertion and their relationship with ultrastructural remodelling in tissues, cells and cellular organelles is still remaining unclear. The aim of the study was to assess structural changes in the tissues of the calf muscle and myocardium that cause the development of adaptive mechanisms in response to prolonged physical exertion. We studied the structural components of tissue samples of calf muscle and the apex of the heart taken from mature Wistar male rats weighing 220-250 g in mass exposed to prolonged physical exertion by using electron microscopy. It has been shown that a long and intense physical loading causes the development of a number of compensatory-adaptive reactions directed at improving microcirculation processes, oxygen supply of skeletal muscles and myocardium, as well as maintaining an adequate level of metabolic processes. A detailed assessment of the functional state of the tissues studied is necessary for the early detection of signs of maladjustment under the constant loading in sports and the prevention of pathological states.