

УДК 796.015.6:611.73+001.891.5

В.А. Пастухова

Кафедра медико-біологічних дисциплін (зав. – проф. В.А. Пастухова) Національного університету фізичного виховання і спорту України, м. Київ

ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ МІТОХОНДРІЙ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ПРИ ФІЗИЧНОМУ НАВАНТАЖЕННІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. У даному дослідженні представлено результати щодо морфометричних показників мітохондрій литкового та камбалоподібного м'язів експериментальних тварин в умовах впливу довготривалого фізичного навантаження. Виявлено, що «швидкі» та «повільні» м'язові волокна у щурів по-різному реагують на таке навантаження. В одних тварин воно викликає розвиток виражених адаптаційних процесів без суттєвих пошкоджень ультраструктур, тоді як у інших переважають деструктивно-дистрофічні процеси. Це може бути підґрунтям для розуміння механізмів індивідуальних особливостей скорочувальної здатності скелетної мускулатури спортсменів.

Ключові слова: м'язові волокна, мітохондрії, тривале фізичне навантаження.

Довготривала адаптація до значних фізичних навантажень є основою спортивних тренувань, фундаментом для досягнення високих спортивних результатів [1]. При багаторічних значних фізичних навантаженнях дуже важливим є своєчасне виявлення несприятливих порушень і вимагає глибокого вивчення даної проблеми. Зміни в процесі систематичної м'язової роботи мають пристосувальний характер і відбуваються на всіх рівнях структурної організації організму. Значні фізичні навантаження, особливо на тлі тривалого тренувального процесу, можуть викликати негативні зміни в організмі, призводити до напруження адаптаційних механізмів та їхнього зриву, що виявляється в порушеннях функціонального стану не тільки серцево-судинної та імунної систем [2, 3], які добре вивчені, але й інших життєво важливих систем організму. Фізичне навантаження під час тренувань і змагань є причиною прямого впливу на зміни структури м'язів та їхню функціональну активність.

Дослідження проведені у рамках НДР 2.24. "Підвищення ефективності тренувальної та змагальної діяльності кваліфікованих спортсменів дозволеними засобами відновлення та стимуляції працездатності" (номер держреєстрації 0111U001731) Зведеного плану науково-дослідних робіт у сфері фізичної культури і спорту Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України на 2011-2015 рр.

Мета дослідження: вивчення морфофункціональних особливостей будови мітохондрій лит-

кового та камбалоподібного м'язів експериментальних тварин при значних фізичних навантаженнях на ультраструктурному рівні.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на 20 білих статевозрілих щурах лінії Фішер з початковою масою 200-220 г. Тварин порівню було розподілено на контрольну (інтактні щури) та основну групу, в якій фізичне навантаження відтворювали шляхом застосування протягом 5 тижнів щоденного плавання тварин по 30 хвилин з додатковим вантажем, що складав 10% від маси тіла. Утримання і використання лабораторних тварин відповідало методам, які рекомендуються національними нормами з біоетики [4]. Після декапітації під ефірним наркозом шматочки м'язів фіксували 2,5% розчином глютарового альдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією у 1% розчині чотириокису осмію за Мілонінгом. Зневоднювання проводили у спиртах зростаючої концентрації та ацетоні. Просочували та заливали у суміші епон-аралдит згідно із загальноприйнятою методикою [5].

Вивчення матеріалу литкових та камбалоподібних м'язів щурів обох груп проводили на трансмісійному електронному мікроскопі ПЕМ-125К (Росія) з подальшим фотографуванням. Отриманий цифровий матеріал опрацьовували методами варіаційної статистики за допомогою прикладних пакетів комп'ютерних програм "Statgraphics" і "Excel 97". Достовірність змін оцінювали з урахуванням *t*-критерію Ст'юдента. [6].

Результати досліджень та їх обговорення.

©. Пастухова В.А., 2016

Мітохондрії в литковому м'язі розташовуються підсарколемно, поміж саркомерами та розрізняються за формою та розмірами. Загалом їх кількість дорівнює $(93,19 \pm 16,03) \times 10^{-2}$ в мкм^3 , що значно більше, ніж у литковому м'язі інтактних тварин (табл. 1). При аналізі розподілу мітохондрій за цим показником видно, що таке збільшення відбувається внаслідок суттєвого зниження числа ділянок, які були притаманні інтактним щурам, та

появі ділянок, майже повністю заповнених мітохондріями (рис. 1).

Як свідчать отримані дані (табл. 1), збільшується не тільки кількість, а й середня площа зрізу мітохондрій у порівнянні з інтактними тваринами. Це зумовлено появою великих за розмірами органел, яких не було у інтактних щурів, на тлі зменшення числа найдрібніших мітохондрій.

Слід зазначити, що такі органели у симпла-

Таблиця 1

Морфометричні показники мітохондрій (МТ) у симпластах литкового м'яза щурів контрольної та основної груп

Групи тварин	Показники, що вивчались ($\bar{X} \pm S$)			
	Об'ємна щільність МТ, %	Кількісна щільність МТ, $10^{-2} \times \text{мкм}^{-3}$	Площа зрізу МТ, 10^{-2}мкм^2	Фактор форми
Контроль (n=6)	$3,37 \pm 0,57$	$22,2 \pm 5,18$	$15,93 \pm 0,67$	$0,83 \pm 0,01$
Основна, в тому числі:				
підгрупа I (n=3)	$27,37 \pm 7,17^*$	$93,19 \pm 16,03^*$	$43,68 \pm 1,88^*$	$0,82 \pm 0,01$
підгрупа II (n=3)	$7,96 \pm 2,24^* \#$	$39,62 \pm 5,78^\#$	$30,18 \pm 2,01^* \#$	$0,75 \pm 0,01^* \#$

Примітка: * – статистично вірогідно порівняно з даними в контрольній групі; # – порівняно з даними в підгрупі I ($p < 0,05$)

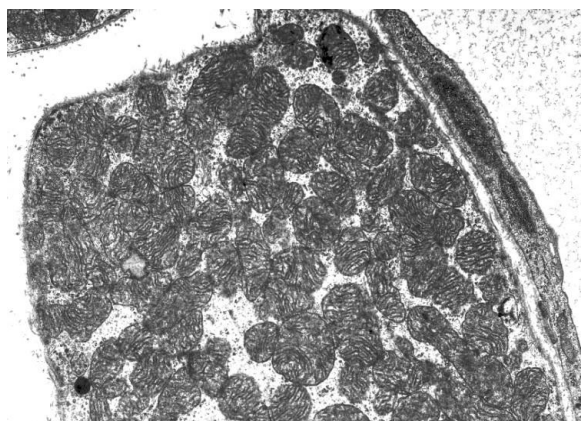


Рис. 1. М'язові волокна у литковому м'язі щурів підгрупи-I після довготривалого фізичного навантаження. Скупчення мітохондрій. Електронномікроскопічне фото. Зб.: 13000

тах після фізичного навантаження розташовуються, як правило, поодинокі, поміж саркомерів (див. рис. 1). Але здебільшого мітохондрії утворюють підсарколемні скупчення або ланцюжки поміж волокон, як це характерно для кардіоміоцитів. Серед мітохондрій у цій групі тварин переважають кулястої форми органели, що підтверджується показником фактора форми, який наближений до 1,0 (табл. 1). Звертає на себе увагу той факт, що гіпертрофія та гіперплазія мітохондрій у симпластах литкового м'яза після фізичного навантаження супроводжується значним знижен-

ням числа гранул глікогену, тобто у цих тварин відбувається зміна гліколітичного шляху метаболізму на окислювально-відновний. Про функціонування мітохондрій у напруженому режимі свідчить і наявність у них великої кількості розташованих, в основному паралельно, крист.

Мітохондрії мають свої особливості як за кількісним представництвом, так і ультраструктурою. В об'ємі симпласту, що дорівнює $1,0 \text{мкм}^3$, міститься $(39,62 \pm 5,78) \times 10^{-2}$ мітохондрій при середній площі зрізу $(30,18 \pm 2,01) \times 10^{-2} \text{мкм}^2$. Слід відзначити, що, хоча за середнім показником кількісна щільність мітохондрій у цих щурів статистично не відрізняється від інтактних (табл. 1), внаслідок великої помилки через значний розкид показників у експериментальних тварин, розподіл ділянок з різним числом цих органел суттєво різниться між собою. В II підгрупі щурів після фізичного навантаження, як і у контрольних тварин, більша частина симпласту містить у 1мкм^3 до 20^2 мітохондрій.

Одночасно в ультраструктурі м'яза з'являються ділянки (~ 20 %), що переповнені мітохондріями. Такі ділянки у тварин I підгрупи, де виражені компенсаторно-приспосувальні процеси, становлять > 50%, через що величина кількісної щільності суттєво (більш ніж удвічі) і достовірно перевищує середній показник у II підгрупі. Відмінності мітохондрій за площею зрізу в I та II пі-

дгрупам також є значущими, але не такими виразними, як кількість цих субклітинних органел. Розподіл мітохондрій за площею в інтактних щурів має несиметричний характер; в I підгрупі основної групи він найбільш близький до нормального, властивого інтактним тваринам, тоді як у II підгрупі цей показник зазнає незначного зсуву вліво за відсутності одного проміжного класу.

Окрім кількісних показників, мітохондрії у порівнювальних групах відрізняються також за ультраструктурою. Внаслідок інвагінацій на своїй поверхні вони часто набувають неправильної форми, що підтверджується і результатами морфометричного аналізу. Величина фактора форми зменшується до $0,75 \pm 0,01$, що достовірно менше, ніж у контролі та I підгрупі (табл. 1). Більшість мітохондрій не мають чітко структурованої зовнішньої мембрани; кристи, як правило, фрагментовані, вакуолізовані, число їх незначне; матрикс гомогенізований. Ще однією особливістю таких мітохондрій є накопичення в них гранул кальцію (рис. 2).

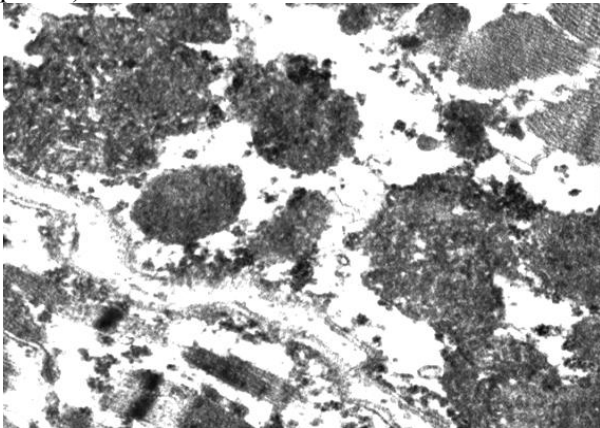


Рис. 2. М'язові волокна у литковому м'язі щурів групи II після довготривалого фізичного навантаження. Мітохондрії із гомогенізованим матриксом помірної електронної щільності, залишками крист та гранулами кальцію. Електронномікроскопічне фото. Зб. 48000

Кількість гранул глікогену всюди в симпластах є незначною, що суттєво відрізняє їх від інтактних тварин і на тлі поширеності деструктивно-дистрофічних змін мітохондрій може відображати стадію декомпенсації в енергетичному забезпеченні волокон у литковому м'язі деяких щурів при довготривалому фізичному навантаженні.

Мітохондрії набувають неправильної форми, мають електронно-прозорий матрикс та паралельно розташовані кристи. Іноді спостерігаються органели з центричним розташуванням крист (рис. 3), що характерно при напружених процесах. Морфометричний аналіз показав, що фізичне

навантаження викликає збільшення розмірів мітохондрій камбалоподібного м'яза. Середня площа цих органел більш ніж удвічі перевищує цей же показник у інтактних тварин. Причому, як і у контролі, мітохондрії у підсарколемній зоні більші за площею зрізу, ніж ті, що розташовані міжфібрилярно (табл. 2).

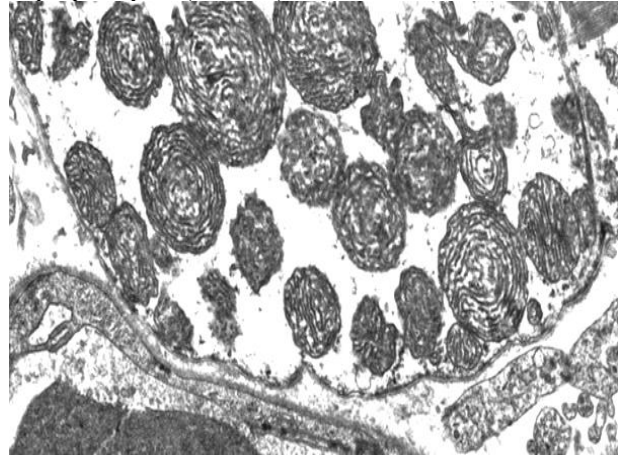


Рис. 3. М'язові волокна у камбалоподібному м'язі щурів після довготривалого фізичного навантаження. Мітохондрії з концентричним розташуванням крист. Електронномікроскопічне фото. Зб. 48000

Таке збільшення відбувається внаслідок зменшення числа дрібних мітохондрій і появи крупних органел, які не спостерігаються у контролі. Фактор форми мітохондрій віддаляється від 1, тобто вони втрачають кулясту або овальну форму. Більш виразних змін зазнають органели у міжфібрилярних ділянках. Якісний аналіз свідчить, що такі зміни відбуваються через формування на поверхні мітохондрій значних випинів. Кількісна щільність мітохондрій за середніми показниками значно не відрізняється від контролю в обох зонах, але при фізичному навантаженні похибка середньої величини є дуже великою. Це є результатом нерівномірного розподілу мітохондрій у різних ділянках симпласту. При фізичному навантаженні і підсарколемно, і міжфібрилярно переважають ділянки з найменшим числом цих органел (до 20×10^{-2} в $\mu\text{м}^3$). Водночас з'являються ділянки, де їх кількість значна ($60-80 \times 10^{-2}/\mu\text{м}^3$), тоді як у інтактних тварин переважають ділянки з середнім числом ($20-40 \times 10^{-2}/\mu\text{м}^3$) мітохондрій. Хоч загальна кількість мітохондрій у м'язових волокнах камбалоподібного м'яза не збільшується, за рахунок їх значної гіпертрофії значно (майже в 4 рази) збільшується їх об'ємна щільність. Як і у контролі, більший об'єм мітохондрій займають у підсарколемній зоні симпластів (табл. 2).

Тобто, литковий та камбалоподібний м'язи у різних експериментальних тварин за однакового

Таблиця 2

Морфометричні показники мітохондрій у периферійних (I) та центральних (II) ділянках симпластів камбалоподібного м'яза щурів контрольної та основної груп.

Групи	Об'ємна щільність МТ, %	Кількісна щільність МТ, $10^{-2}/\text{мкм}^3$	Площа зрізу МТ, 10^{-2}мкм^2	Фактор форми
К-I	4,73±1,83	29,85±1,03	18,01±1,61	0,80±0,1
К-II	2,72±0,93	24,73±1,54	13,97±1,16	0,80±0,1
ФН-I	17,49±7,07	29,44±9,27	42,49±2,54	0,78±0,01
ФН-II	9,10±4,24	22,57±11,75	33,76±4,31	0,69±0,02

тренування по-різному реагують на довготривале фізичне навантаження. У частини тварин воно викликає розвиток виразних адаптаційних процесів без суттєвих пошкоджень ультраструктур, тоді як у інших переважають деструктивно-дистрофічні процеси у м'язових волокнах. Це, можливо, пов'язано з особливостями будови литкового м'яза, який належить до так званого "білого" типу, та камбалоподібного м'яза, який належить до так званого "червоного" типу [7]. Відомо, що м'язи складаються з різних типів волокон: 1 тип – це м'язові волокна, які скорочуються повільно і мають дуже високу опірність до стомлення. До типу 2 належать волокна, які скорочуються швидше, ніж волокна 1-го типу, але тоді ж і швидше втомлюються. Швидкі м'язові волокна типу А виробляють більше потужності, ніж повільні, але відстають за витривалістю від волокон типу В. Цей тип В ще називають «проміжним», оскільки йому притаманні властивості як швидких, так і повільних волокон [8]. Залежно від їхньої специфічної комбінації литковий та камбалоподібний м'язи у різних тварин будуть по-різному реагувати на довготривале фізичне навантаження, що і спостерігається в нашому дослідженні, а також підлягають модерації залежно від побудови тренувального процесу, раціону, фармзабезпечення тощо. Специфічні фізичні навантаження значної

тривалості у процесі адаптації можуть викликати експресію визначених генів, зокрема mRNA інтерлейкіну 6 (IL-6), рецептора IL-6, інсуліноподібного фактора росту, фосфофруктокінази та транспорту глюкози, кінцевим наслідком чого стає покращення резистентності організму до негативних зовнішніх чинників [9].

Висновок. Такий розподіл змін ультраструктури мітохондрій литкового та камбалоподібного м'язів у різних експериментальних тварин, що перебували під впливом фізичного навантаження однакової тривалості та інтенсивності, свідчить про індивідуальні пристосувальні механізми різної виразності та сили до тривалого навантаження та прояснює механізми адаптаційних перебудов на рівні ультраструктури м'язового волокна та показників, що відображають напруженість енергогенеруючих процесів у скелетних м'язах.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати свідчать про необхідність подальшого вивчення змін у м'язовій системі при фізичних навантаженнях, шляхів корекції виявлених змін, а також при застосуванні різноманітних факторів, які позитивно впливають на фізичну працездатність, що допоможе створити підґрунтя для адекватного використання засобів корекції біоенергетичних процесів в організмі.

Список використаної літератури

1. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / [Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э.]. – Челябинск: Изд-во Челябинского гос. пед. ун-та, 2000. – 167 с.
2. Гаврилова Е.А. Спортивное сердце. Стрессорная кардиомиопатия / Е.А. Гаврилова. – М.: Советский спорт, 2007. – 198 с.
3. Pershin V.B. Reactions of immune system to physical exercis / V.B. Pershin, A.B. Geliev, D.V. Tolstov // Russ. J. Immunol. – 2002. – V. 7, № 1. – P. 2-24.
4. Біоетична експертиза до клінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах. Методичні рекомендації Національного Комітету з питань біоетики при Президії НАН України, Комітету з біоетики при Президії АМН України, Інституту фармакології і токсикології АМН України МОЗ України. – К., 2006. – 29 с.
5. Каруну В.Я. Электронная микроскопия / В.Я. Каруну. – Киев: Вища школа, 1984. – 208 с.
6. Ланг Т.А. Как описывать статистику в медицине: руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т.А. Ланг, М. Сесик. – М.: Практическая медицина, 2011. – 480 с.
7. Fibre-type specific concentration of focal adhesion kinase at the sarcolemma: influence of fibre innervation and regeneration / [Flück M., Ziemiecki A., Billeter R., Müntener M.] // J. Exp. Biol. – 2002. – № 8, Pt 16. – С. 2337-2348.
8. Moderate physical training attenuates muscle-specific effects on fibre type composition in adult

rats submitted to a perinatal maternal low-protein diet / [Leandro C.G., da Silva Ribeiro W., Dos Santos J.A. et al.] // Eur. J. Nutr. – 2011. – V. 11, № 4. – С. 123-134. 9. Similar changes of gene expression in human skeletal muscle after resistance exercise and multiple fine needle biopsies / [Friedmann-Bette B., Schwartz F.R., Eckhardt H. et al.] // J. Appl. Physiol. – 2012. – V. 112, № 2. – P. 289-295.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ МИТОХОНДРИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. В данном исследовании представлены результаты изучения морфометрических показателей митохондрий икроножной и камбаловидной мышц экспериментальных животных в условиях воздействия длительной физической нагрузки. Выявлено, что «быстрые» и «медленные» мышечные волокна у различных крыс по-разному реагируют на такую нагрузку. У одних животных она вызывает развитие выраженных адаптационных процессов без существенных нарушений ультраструктуры, тогда как у других преобладают деструктивно-дистрофические процессы. Это может быть основой для понимания механизмов индивидуальных особенностей сократительной способности скелетной мускулатуры спортсменов.

Ключевые слова: мышечные волокна, митохондрии, длительная физическая нагрузка.

PECULIARITIES OF STRUCTURAL ORGANIZATION OF MITOCHONDRIA OF THE SKELETAL MUSCLES DURING PHYSICAL ACTIVITY IN THE EXPERIMENT

Abstract. The study deals with the results of examination of morphometric mitochondria indices of the gastrocnemius and soleus muscles of the experimental animals under conditions of long physical exertion. “Quick” and “slow” muscular fibers in different rats are found to respond to such an exertion in different ways. In some animals it causes development of marked adaptation processes without considerable disorders of the ultrastructure, while in others destructive-dystrophic processes prevail. It can be the basis to understand the mechanisms of individual peculiarities of the skeletal muscles contractile ability of sportsmen.

Key words: muscle fibers, mitochondria, long physical exertion.

National University of Physical Education and Sport of Ukraine (Kyiv)

Надійшла 25.01.2016 р.

Рецензент – проф. Сарафинюк Л.А. (Вінниця)