

*Богдан Мицкан, Святослав Попель, Іван Мельник*

## **ГІСТОМЕТРИЧНА ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ НЕРВОВО-М'ЯЗОВИХ ЗАКІНЧЕНЬ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ В УМОВАХ ГІПОКІНЕЗІЇ**

Розвиток і життєдіяльність людського організму нерозривно пов'язані з його руховою активністю [1, 2]. Вона визначає нормальний ріст і розвиток організму, сприяє найбільш повній реалізації генетичного потенціалу, становленню і формуванню вегетативних функцій [2, 3, 4]. Будучи негентропійним фактором, рухова активність, починаючи з ранніх етапів онтогенезу, поступово збільшує адаптаційні ресурси організму і його робочі можливості. В межах допустимого діапазону вона створює основу, яка необхідна для оптимуму існування організму в умовах зовнішнього середовища. При відсутності такої активної рухової діяльності відбувається обмеження ростових факторів, що викликає цілий комплекс морфо-функціональних та біохімічних змін у всіх органах і системах [5, 6]. Відомо, що в умовах гіпокінезії різко зменшується функція скелетних м'язів, яка призводить до атрофії м'язових волокон [1, 5]. При цьому залишається невивченим питання перебудови нервово-м'язових закінчень в умовах пониженої рухової активності.

Тому метою нашого дослідження було вивчення динаміки гістологічних та ультраструктурних змін аксом'язових синапсів в умовах довготривалої гіпокінезії на ранньому етапі онтогенезу.

### **Матеріал і методи дослідження.**

Об'єктом дослідження служили скелетні м'язи безпородних цурів-самців віком від 30 до 360 діб. З метою вивчення гіпокінезії на ріст та диференціацію скелетних м'язів нами проведені експерименти по обмеженню рухової активності нетренованих тварин протягом 30, 60, 90 і 300 діб.

Для дослідження скелетних м'язів використані гістологічні та електронно-мікроскопічний методи.

### **Результати дослідження та їх обговорення.**

Проведені нами дослідження показали, що реакція нервово-м'язових закінчень на гіпокінезію проявляється на всіх рівнях їх структурної організації і має чітко виражену динаміку. Після 30 діб гіпокінезії в претермінальних ділянках утворюються варикозні розширення мієлінових

нервових волокон, зменшується площа розгалуження термінальних гілок рухового аксону, які утворюють пресинаптичний полюс аксом'язових синапсів.

На ультраструктурному рівні показано, що виникнення варикозних розширень пов'язано з набряком і розшаруванням мієлінової оболонки. При цьому в ядрах нейролемоцитів відбувається конденсація хроматину, часткова вакуолізація цитоплазми. В аксоплазмі зростає щільність матриксу мітохондрій.

В аксом'язових синапсах зменшується периметр терміналей аксону, довжина синаптичних контактів, ширина та довжина активних зон пресинаптичної мембрани, кількість синаптичних везикул, провітлюється матрикс мітохондрій і фрагментуються кристи. З боку постсинаптичних структур необхідно відмітити збільшення відстані між синаптичними складками, що обумовлено їх руйнуванням (рис 1).

Порівняння ультраструктури кінцевих нейролемоцитів контрольних і піддослідних тварин показало ряд характерних змін, які свідчать про розвиток стрес-реакції в цих клітинах у відповідь на гіпокінезію. З аналізу наших даних і даних літератури видно, що компенсаторно-приспосувальні реакції нейролемоцитів при гіпокінезії проявляються гіпертрофією таких морфологічних структур, які забезпечують достатній рівень синтетичних процесів.

У порівнянні з контрольними показниками після 60-добової гіпокінезії ходу еферентних мієлінових волокон, і особливо їх претермінальних відділів, зростає частота і величина варикозних розширень, зменшується як первинний, так і вторинний спраутинг рухових аксонів. При електронно-мікроскопічному дослідженні в мієлінових волокнах розширюється периаksonальний простір, в аксоплазмі зростає ступінь агрегації філаментознотубулярних структур, що дозволяє говорити про порушення аксонного транспорту [7,8]. Агрегація мікротрубочок і нейрофіламентів може проходити в умовах підвищеної кислотності аксоплазми. Таке "закислення", очевидно, є результатом спотвореної функції нейролемоцитів, які знаходяться в неадекватних умовах і виділяють в оточуюче середовище кислий білок [9]. При цьому в цитоплазмі нейролемоцитів з'являється значна кількість вакуолей, мієлінова оболонка має множинні ділянки набряку і розшарування ламел мієліну. Деградація мієлінової оболонки є показником глибокого порушення обміну фосфоліпідів [10].

В аксом'язових синапсах 60-добова гіпокінезія викликає дезінтеграцію більшості складок постсинаптичної мембрани, розширення синаптичної щільності і вростання в неї відростків кінцевих нейролемоцитів. В терміналях аксону зменшується число везикул, з'являються синаптичні пухирці різної

величини, серед яких переважають везикули малого діаметру. Мітохондрії малочисельні і, як правило, мають просвітлений матрикс і зруйновані кристи. Якщо врахувати, що гіпокінезія порушує окислювальний метаболізм [11], в якому беруть участь мітохондрії, то можна припустити, що атрофія м'язів зумовлена порушенням активного транспорту нейромедіатора внаслідок порушеного енергозабезпечення аксом'язової передачі нервового імпульсу. При цьому відомо, що морфологічним субстратом порушення окислювального фосфорилування є фрагментація і редукція юрист, яка проявляється зниженням активності сукцинатдегідрогенази. Набухання мітохондрій в окремих ділянках аксом'язового синапсу, очевидно, є результатом компенсаторно-приспосувальної реакції, яка спрямована на підсилення їх функціональної активності. Підтвердження цього положення можна знайти в роботі Саркісова Д. С. [12], де авторадіографічним методом встановлено зростання синтезу ДНК в набряклих мітохондріях (рис. 2). При цьому на 40 % зменшується периметр терміналей, а довжина синаптичного контакту на 73,3 %. Відомо, що число везикул нейромедіатора і кількість мітохондрій в пресинаптичній терміналі аксона залежить з одного боку від синаптичної активності нейрона [4], з іншого, від аксонного транспорту [13]. Отримані нами дані свідчать про зниження інтенсивності цих процесів в умовах гіпокінезії. В постсинаптичному відділі зменшується (до 64,89%) кількість синаптичних складок, відстань між ними зростає (до 200 %), ширина та довжина активних зон зменшується відповідно на 66,6 % і 46,6%. Вищеописані зміни характерні для всіх типів м'язових волокон (МВ), однак на даному етапі експерименту найбільшу стабільність до патогенстичного впливу гіпокінезії виявляють повільні оксидативні МВ (SO-міони), найнижчу - швидкі гліколітичні МВ (FG-міони), швидкі окисно-гліколітичні (FOG-міони) займають проміжне положення.

Продовження тривалості обмеження рухової активності до 90 діб призводить до дегенеративного розпаду окремих еферентних волокон і термінальних розгалужень рухового аксона, що викликає денервацію МВ. При цьому їх структурна цілісність деякий час може підтримуватись мембранними рецепторами інсуліну, кількість яких зростає при денервації [14]. Відмічено, що в ділянці нервово-м'язового контакту зростає кількість нейролемоцитів і аргірофілія їх ядер. Середня площа нервово-м'язового контакту зменшується порівняно з контролем на 65,6 %, а в порівнянні з даними попереднього експерименту на 33,2 %.

В аксом'язових синапсах FG-міонів терміналі рухових аксонів переобтяжені синаптичними пухирцями, що свідчить про хронічне порушення механізму екзоцитозу ацетилхоліну через пресинаптичну мембрану. Аналогічне явище спостерігається при розвитку міастенічного

синдрому [15,16]. Їх кількість на весь зріз через активну зону синапса зростає на 58 % порівняно з контрольними показниками і на 350 % більша, ніж на етапі 60-добової гіпокінезії. В субсинаптичній зоні розміщується значна кількість рибо- і полірибосом, а також піноцитозні пухирці, які проникають туди внаслідок пошкоджень постсинаптичної мембрани

Гістометричний аналіз та дослідження ультраструктури аксом'язових синапсів FOG- та SO-міонів показав, що в них теж з'являється тенденція до збільшення кількості піноцитозних пухирців, зменшення довжини синаптичного контакту, кількості синаптичних складок, ширини та довжини активних зон пресинаптичної мембрани.

На даному етапі експерименту ми спостерігали формування так званих вторинних синапсів, для яких характерною ознакою є повна відсутність складок в постсинаптичній мембрані. Зменшення складчатості мембрани веде до звуження її площі, а значить, і до зниження кількості холінорецепторів, зникнення додаткової площі для інактивації медатора з допомогою ацетилхолінестерази та зменшення кількості Na-K-АТФ-ази, яка забезпечує місцеву реполяризацію постсинаптичної мембрани [17]. Цікавим є те, що пресинаптична мембрана в цій ситуації забезпечує екзоцитоз ацетил холіну як в активних, так і в неактивних зонах. Подібне явище описане в роботі W. Hurbult [18] при дії токсинів, які блокують екзоцитоз медатора. Особливість будови аксом'язових синапсів більшості вторинних МВ полягає в тому, що пресинаптичний полюс утворений декількома терміналами мультиаксонного походження. Останні містять відносно малу кількість синаптичних пухирців, відсутні чітко сформовані активні зони. При цьому терміналі утворюють тісні аксоннейролемоцитні і аксон-аксонні щільні контакти.

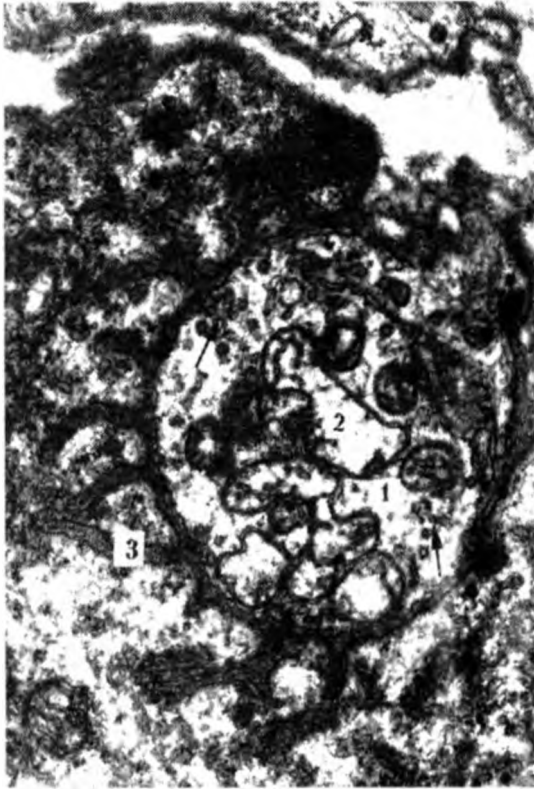


Рис. 1 Зменшення кількості синаптичних везикул, просвітлення мітохондрій і розпад мембран постсинаптичних складок у аксом'язовому синапсі FG-міону прямого м'яза стегна після 30 діб гіпокінезії.

1 – терміналь аксону; 2 – мітохондрії; 3 – синаптичні складки.

Стрілками показано синаптичні везикули, а трикутниками – активна зона. Збільшення: X 20 000.



Рис. 2. Дезінтеграція складок постсинаптичної мембрани аксом'язового синапсу FG-міону після 60 днів гіпоксії.

1 – відростки кінцевих нейролемоцитів; 2 – терміналь аксону; 3 – синаптична щілина; 4 – активна зона

Трикутниками показані зони дезінтеграції постсинаптичних складок. Збільшення: X 25 000

Враховуючи динаміку утворення вторинних синапсів і вищенаведені дані, необхідно зробити висновок про участь нейролемоцитів в процесі

ресервації МВ Ми припускаємо, що після руйнування аксонних терміналей нейролемоцити приступають до синтезу і структуризації у матриці синаптичної щільності речовини або речовин, які визначають запуск механізмів росту аксону, а потім - його гальмування при контакті з базальною пластинкою колишнього синапсу. Такими факторами можуть бути речовина Р, фактор росту аксонів та ін [19, 20, 21]. Однак утворення ефективних синапсів і довготривале підтримання їх нормальної структури в умовах гіпокінезії неможливе, оскільки вимагає впливу прогностичних м'язових факторів - міотрофінів. За умов пригнічення фізіологічної регенерації м'язових волокон при обмеженні рухової активності аксони, хоч і не інервують "стару" базальну пластинку, але, пробувши на ній деякий час зникають із зони колишнього синапсу.

Обмеження рухової активності протягом 300 діб веде до масивного руйнування нервово-м'язових закінчень, гомогенізації мієлінових оболонок, атрофії аксонів. Аксоплазма просвітлена, в ній відсутні нейрофіламенти та інші специфічні включення. Такі дегенеративні зміни свідчать про суттєве порушення в системі аксонного транспорту. Відомо, що нейротрофічний вплив мотонейрона на м'язові волокна значною мірою залежить від системи аксонного транспорту. На це вказує цілий ряд досліджень по його фармакологічній блокаді [22, 23]. Тому деструктуризацію аксоплазми при гіпокінезії слід розцінювати як фактор, що послаблює нейротрофічний вплив на мембрану м'язового волокна. Для реалізації нейротрофічного контролю вагоме значення має секреція ацетилхоліну. Це зумовлено тим, що він є обов'язковим чинником для виділення з термінальної аксоплазми специфічних трофогенів [22].

В аксом'язових синапсах термінальні розгалуження руйнуються, в результаті чого пресинаптичний полюс нервово-м'язових контактів перестає існувати. В цих ділянках спостерігаються залишки аксоплазми. Відомо, що постійною ознакою при всіх формах і ступенях нейро- та міопатій є недостатність активної передачі імпульсу в зоні пресинаптичної мембрани. Результати, отримані нами, показують, що при гіпокінезії до наявних деструктивних змін претермінальних волокон і аксонних терміналей приєднується недостатність передачі імпульсів, яка обумовлена глибокими дегенеративними змінами в постсинаптичних мембранах, що посилює несприятливі умови для розвитку поперечносмугастого м'яза. У зв'язку з тотальною деструкцією ультраструктур аксом'язових синапсів на даному етапі експерименту гістометричні дослідження провести не вдалося.

Що стосується синапсів вторинного МВ, то для їх терміналей характерним є периферичне розташування синаптичних пухирців з одночасним утворенням обширних пустот у центральній частині

терміналу. Синаптичні везикули через пошкоджені ділянки пресинаптичної мембрани потрапляють у субсинаптичну зону, яка, як і на попередньому етапі дослідження, має примітивну архітектуру.

Таким чином, проведені нами дослідження дають поглиблену уяву про відносну частоту і характер порушення нервово-м'язових закінчень при довготривалій гіпокінезії та її вплив на дозрівання організму.

1. Никитюк Б. А., Митрофаненко В. П. Потребность организма в движениях как наследуемая и воспитываемая характеристика // Возрастная и экологическая морфология животных в условиях интенсивного животноводства. – Ульяновск. - 1987. - С. 105-108.
2. Fidzianska A. Human ontogenesis // J. Neuropatol. & Exp. Neurol. - 1980. -Vol 39, № 5. -P 606-615.
3. Frochner S. The role of the postsynaptic cytoskeleton in AchR organization // Trends Neurosci - 1986 - Vol 9, № 1 - P 37-40.
4. Разумовская Н. И Роль нервной системы в регуляции синтеза мышечных белков // Нервный контроль структурно-функциональной организации скелетных мышц - Л. Наука - 1980 - С 69-83.
5. Щегольков А. Н., Пилашевич А. А., Приймаков А. А. Морфофункциональная основа развития высокой работоспособности мышц // I Национальный конгресс анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України. - Івано-Франківськ. - 1994. - С 196.
6. Hystochemical and biochemical studies on the exercise on the skeletal muscle fibers in rats / Takekura H., Tanaka H., Ono M., et al. // Jpn. J. Phys. Fitness Sports. Med. - 1985. - Vol. 34, № 5. - P. 276-283.
7. Геращенко С. Б. Нейровазальные отношения седалищного нерва, его сегментарных центров и их изменения при холодовой нейропатии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Симферополь. - 1990. - 19 с.
8. Попель С. Л. Морфофункциональный стан мікроциркуляторного русла і нервних волокон лицевого нерва в нормі, при експериментальній нейропатії і в умовах лазерного опромінення. Автореф. дис. ... канд. мед. наук - Київ - 1994. - 18с.
9. Skene J., Shooter E. Denervated sheath cells secrete a new protein after nerve injury // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. - 1983. - Vol 80, № 6 - P. 65-70.
10. Согников О. С., Коломийцев А. К., Чайковский Ю. Б. Нейролемоциты и проблема восстановления поврежденных нервов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии - 1989 - т.96, №1. - С.87-99.
11. Ганин Ю. А. Активность окислительных ферментов цикла Кребса, содержание лимонной и щавелевоуксусной кислот в тканях крыс при



- гіпокінезії // Изменение метаболизма у животных при гипокинезии. – Ярославль. - 1984. - С. 4-18.
12. Саркисов Д. С. Очерки по структурным основам гомеостаза. - М Медицина - 1977. - 352 с
  13. Сотников О. С. Динамика структуры живого нейрона - Л. Наука. - 1985.-160с.
  14. Jozca L., Kannus P., Kvit M. Histochemical profile of muscle spindles of rats sural muscles // Acta Histochem. - 1990. - Vol 19, №1 - P. 17- 24.
  15. Гехт Б. М., Ильина Н. А. Нервно-мышечные болезни. - М Медицина. - 1982.-352с
  16. Engel A. G., Santa T. Motor endplate fine structure // New development in EMC and Clin. Neurophysiol. – Basel. - 1973 - P. 196-228
  17. Kelly R. B., Miljanich G., Pfefer S. Presynaptic mechanisms of neuromuscular transmission // Miastenia gravis. – London, New York. - 1983 -P. 43-104
  18. Hurbut W. P. The correction between vesicle loss and quantal secretion the frog neuromuscular junction // Cell Biol. Int. Resp. - 1989. - Vol 13, №12. - P. 1053-1062.
  19. McManaman J. L., Blooser J. C., Appel S. H. Inhibitor of membrane depolarisation regulate acetylholine receptor synthesis by calciumdependent mechanism // Bioacta - 1982. - Vol.72, №1. - P. 28-35.
  20. Lees M. B. Recept studies on the chemistry myelin proteolipid // Third Int. Symp. On myelination & demyelination -Varna - 1986 -P.9
  21. Heath J. W., Inuzuka T., Qarles R. H. Distribution of P protein and the myelin-associated glycoprotein in peripheral nerves from Trembler-mice // J. Neurocytol. - 1991 - Vol 20, № 6 - P. 439-449
  22. Волков Е.М., Полегаев Г.И., Влияние блокады аксонного транспорта на токи концевой пластинки мышечных волокон лягушки // Нейрофизиология. - 1985. -т.17, № 2. -с 201-211.
  23. Михайлов В. Б. К механизму нарушений нейротрофической регуляции функциональных свойств саркоплазматических мембран мышечных клеток // Нарушения механизмов регуляции и их коррекция. - Кишинев - 1989 - т.2. - с.545.

Bogdan Mytskan, Sergy Popel, Ivan Melnyk

**HYSTOMETRIC AND ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION  
OF THE NERVIMUSCULAR TERMINALS OF SKELETAL MUSCLES  
AT A HYPOKINESIA**

In clause the data histometric and electronmicroscopic of research of the nervimuscular terminals in conditions long hypokinesia are submitted. The laws of changes of these important formations (educations) are shown during development of muscles, becoming of synapses and frames, which are connected (linked) to them at early stages of an ontogenesis.