

ГІСТО-УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА НЕРВОВО-М'ЯЗОВИХ ЗАКІНЧЕНЬ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ПРИ ТЕРМОРОБОЧІЙ ДЕГІДРАТАЦІЇ ОРГАНІЗМУ

Т. Мосендз

*Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника
вул. Шевченка, 57, Івано-Франківськ 76018, Україна
e-mail: serg_popel@mail.ru*

Мета роботи полягала у вивченні гісто-ультраструктурних, біохімічних та електронейрографічних даних про стан м'язових волокон прямого м'яза стегна та їх нервово-м'язових закінчень у різні терміни (3–14 доба) терморобочої дегідратації організму щурів. Описані основні типи реактивних і деструктивних процесів у нервово-м'язових закінченнях, проведена їх періодизація з виділенням окремих фаз і стадій перебігу морфо-функціональних змін. Проводиться обговорення отриманих результатів дослідження.

Ключові слова: дегідратація, нервово-м'язове закінчення.

Унаслідок зміни середовища існування багатьох біологічних видів у планетарному масштабі з процесами загальної дегідратації (ЗДГ) організму дедалі частіше стикаються як медики, так і біологи [1, 2, 7, 9]. На сьогоднішній день існує комплекс проблем еколого-соціально-економічного характеру, які створюють умови для підвищення кількості техногенних і природних катаклізмів, ведуть до нестачі питної води, сприяють підвищенню температури повітря тощо. При цьому людина в таких умовах повинна виконувати звичайне робоче і побутове навантаження, забезпечувати гігієнічні норми життя [1, 3, 4, 8]. Відомо, що ЗДГ у поєднанні з фізичним навантаженням викликає дещо змінені механізми розвитку загального процесу, сприяє швидкому розгортанню окремих стадій ЗДГ і більш швидкому перегріву організму, змінює перебіг хімічних реакцій [2, 3]. За таких умов розвивається окремий тип ЗДГ – терморобоча дегідратація [5]. Цій проблемі в останні роки присвятили свої дослідження цілий ряд дослідників [4, 7–9]. Однак зміни, які відбуваються в нервово-м'язових закінченнях (НМЗ) скелетних м'язів у різні терміни терморобочої дегідратації (ТДГ) недостатньо вивчені.

Мета роботи – подати морфологічну характеристику нервово-м'язових закінчень у різні терміни терморобочої дегідратації організму щурів.

Матеріал та методи

Об'єктом дослідження служив прямий м'яз стегна і його периферичний нервово-м'язовий апарат 60 безпородних щурів-самців (група контролю складається з 5 щурів). ТДГ моделювали дозованим бігом у тредмілі у приміщенні з температурою повітря 35°C і його одноразовим обміном протягом 2 год при повному обмеженні питного режиму. Для дослідження скелетних м'язів використані гістологічний (імпрегнація за Більшовським-Грос), гістохімічний (за Нахласом) та електронно-мікроскопічний методи.

Для визначення мікроелементного складу зрізів скелетних м'язів попередньо промивали в 100 мл дистильованої води (3 рази по 10 хв у кожній порції), після чого їх озонували в муфельній пічці при $t=800^{\circ}\text{C}$. Зола пресували у спеціальній прес-формі у вигляді “таблетки”, поверхню якої напилували вуглецем (≈ 10 нм). Визначення концентрації Ca^{+2} ,

Fe⁺², Na⁺, K⁺, Mg⁺² проводили загальноприйнятим методом [2] за допомогою комп'ютерної програми "SELMG" і приставки для енергодисперсійного рентгенструктурного мікроаналізу "ЕДАР" на растровому електронному мікроскопі РЕММА-102Е з прискорювальною напругою 20 кВ в енергетичному діапазоні від 960 до 20 000 кеВ.

Стимуляційна та інтерференційна електронейроміографія (ЕНМГ) проводилася на комп'ютерному комплексі "Нейро-ЕМГ-Микро", який має низький рівень шумів, високу чутливість (10–500 мкВ/см) і стійкість до спотворень. Досліджували максимальне довільне скорочення м'яза з використанням кількісного аналізу часових, амплітудних і частотних параметрів. Визначали швидкість проведення імпульсу (ШПІ), амплітуду і тривалість F-хвилі, амплітуду, латентний період і поліфазність M-хвилі, проводили моносинаптичне тестування (Н-рефлекс). За ЕНМГ-ними результатами розраховували відсоток співвідношення H_{max}/M_{max} . За співвідношенням між максимальною і мінімальною амплітудою M-відповіді розраховували кількість рухових одиниць.

Для ЕНМГ використовували два типи відповідних електродів: голкові (площа зрізу 0,07 мм²) і поверхневі. Через невеликий розмір скелетних м'язів у щурів площа відповідних поверхневих електродів не перевищує 5 мм² при міжелектродній відстані 15–20 мм.

Забір матеріалу проводили згідно з «Правилами поводження з експериментальними тваринами» [6]. Отриманий матеріал опрацьований методами непараметричної статистики.

Результати і їхнє обговорення

У процесі розвитку морфологічних змін при ТДГ спостерігають низку послідовних фаз, які мають хронологічну залежність. У сукупності їх можна поділити на фазу гострих (ранні терміни до 3 доби), підгострих (6–9 доба) і сублетальних (до 14 доби) змін. Така періодизація базується на власних показниках і даних інших авторів [2, 8, 9] про основні характеристики багатьох патологічних процесів. Кожна фаза має свої закономірності, що проявляється певною динамікою біохімічних та ЕНМГ-показників.

Гістологічні зміни нервово-м'язових закінчень (НМЗ) прямого м'яза стегна (ПМС) в першій фазі ТДГ виявляються нерівномірним забарвленням і порушенням правильних контурів претермінальних ділянок мієлінових нервових волокон, при зменшенні на 8,91% ($p < 0,05$) площі їх розгалуження. При електронно-мікроскопічному дослідженні виявляється порушення ламелярної структури мієліну, варикозне розширення аксонів, зменшення кількості мікротрубочок, порушення структури крист у мітохондріях, розширення періаксонального простору. При цьому цитоплазма нейролемоцитів має знижену електронно-оптичну щільність, у внутрішньоклітинному просторі збільшується кількість вакуолізованих субклітинних компонентів, а в каріоплазмі спостерігається маргінація хроматину.

В ультраструктурній організації аксом'язових синапсів (АМС) спостерігається певна перебудова, яка пов'язана, в першу чергу, зі зменшенням площі поперечного перерізу термінальних розгалужень аксона. При цьому вкорочуються синаптичні контакти, зменшуються розміри активних зон пресинаптичної мембрани та кількість синаптичних пухирців (рис. 1).

Мітохондрії збільшуються в розмірах, спостерігається зменшення електронно-оптичної щільності їх матриксу, фрагментуються кристи, зовнішній контур стає нерівномірним.

У постсинаптичній мембрані відбувається зменшення кількості міжсинаптичних складок і збільшення відстані між ними, а також зниження їх висоти.

Вищезазначені зміни найбільшою мірою спостерігаються в аксом'язових синапсах FG-міонів у термін з 3-ї по 9-ту добу після моделювання ТДГ (рис. 2). Із даних рис. 2 ви-

дно, що якщо дані контрольної групи прийняти за 100,0%, то три основні параметри FG-міонів прогресивно зменшуються, тоді як відстань між складками постсинаптичної мембрани збільшується у 2,0 рази через 3 доби, у 3,0 рази – через 6 днів і в 4,5 рази на 9-ту добу ($p < 0,05$). При цьому необхідно відзначити, що сильно виражений характер деструктивних змін через 14 днів не дав нам змоги провести ефективну морфометрію.

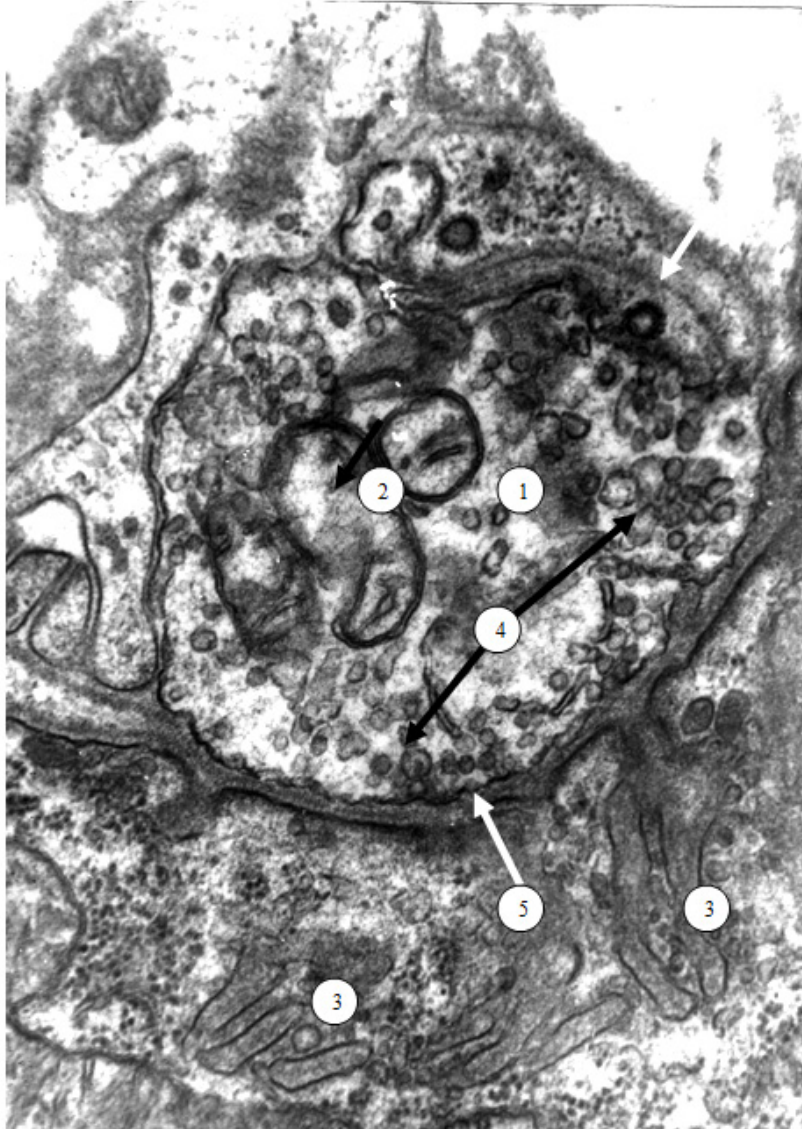


Рис. 1. Зменшення кількості синаптичних пухирців, просвітлення мітохондрій і розпад мембран постсинаптичних складок в аксом'язовому синапсі FG-м'язового волокна прямого м'яза стегна після 3-х днів ТДГ: 1 – терміналь аксона; 2 – мітохондрії; 3 – синаптичні складки. Стрілками показано: 4 – синаптичні пухирці, 5 – активна зона. $\times 20000$.

Порівняння ультраструктури кінцевих нейрореміцитів контрольних і піддослідних тварин показало, що останні містять ядра з глибокими бухтоподібними утвореннями,

в цитоплазмі зростає кількість полірибосом, розширюються каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, з'являється велика кількість вторинних лізосом.

У порівнянні з контролем, хімічний склад прямого м'яза стегна на 3-тю добу ТДГ характеризується зниженням вмісту Na^+ (на 8,91%), Ca^{2+} (на 5,63%), K^+ (на 4,32%), при незмінній концентрації Cl^- і Mg^{2+} .

При аналізі показників ЕНМГ визначається збільшення латентного періоду F-хвилі та зниження її амплітуди, а у 60,51% випадків виявляли поліфазність і додаткові F-хвилі.

У II фазі (6–9-та доба) ТДГ у мієлінових нервових волокнах (МНВ) різного діаметра та їх претермінальних відділах спостерігається значна кількість потовщень і звужень різного розміру, контури мієлінової оболонки набувають нечітких обрисів, зменшуються явища спраунтингу аксонів.

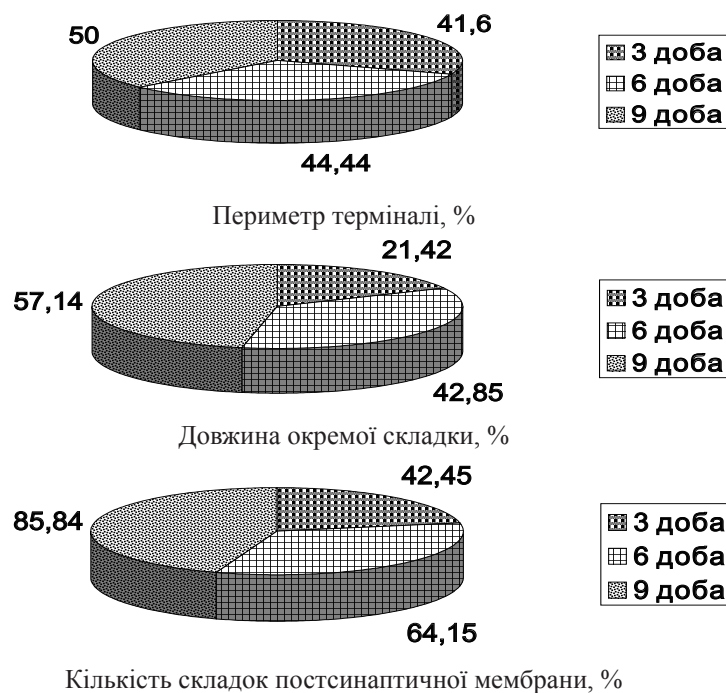


Рис. 2. Зміни гістометричних показників нервово-м'язових синапсів FG-м'язових волокон прямого м'яза стегна у різні терміни ТДГ.

При електронно-мікроскопічному дослідженні спостерігаються набряк і вакуолізація цитоплазми клітин фібробластичного ряду, які утворюють ендоневральну оболонку. У 34,12% МНВ виявляються деструктивно-дистрофічні ознаки: ядра нейролемоцитів мають значну кількість складок каріолеми, містять маргінований хроматин, на фоні зниження осміофільності цитоплазми з'являється значна кількість вакуолей, мітохондрії з матриксом слабкої електронної щільності, й концентруються вони поблизу ядра.

Періаксональний простір розширений, містить локальні звуження, наповнені безструктурними масами, в аксоплазмі збільшується кількість філаментів і зменшується кількість мікротрубочок. Мієлінова оболонка втрачає правильне чергування окремих ламел, вакуолізується і розшаровується вздовж волокон на значній площі (рис. 3).

В аксо-м'язових синапсах FG-м'язових волокон виникають помірні дегенераційно-деструктивні явища: аксоплазма містить зменшену кількість синаптичних пухирців, їх роз-

мір досить гетерогенний, з переважанням пухирців дрібного діаметра. Зменшується кількість мітохондрій, їх матрикс слабкої електронної щільності, спостерігається деструкція окремих крист, іноді порушується цілісність їх зовнішньої мембрани.

Більшість складок постсинаптичної мембрани дезінтегровані, синаптична щілина розширена, а в її просвіті спостерігаються окремі частини відростків цитоплазми нейронеїцитів.



Рис. 3. Ультраструктура термінальних нервових волокон прямого м'яза стегна після 6 діб ЗДГ: 1 – аксон; 2 – мієлінова оболонка; 3 – ядро нейронеїцита; 4 – периневральна оболонка; 5 – м'язове волокно. $\times 8000$.

При цьому периметр терміналей зменшується в середньому на $39,98 \pm 2,51\%$, тоді як довжина синаптичного контакту – в середньому на $72,26 \pm 4,71\%$ ($p < 0,05$). Кількість постсинаптичних складок зменшується в середньому на $61,22 \pm 3,45\%$, а відстань між ними

збільшується удвічі та становить у середньому $201,98 \pm 10,76\%$. Ширина та довжина активних зон зменшується відповідно на $65,84 \pm 4,57\%$ і $45,69 \pm 4,03\%$ ($p < 0,05$).

Аксом'язові синапси SO-м'язових волокон на даному етапі експерименту виявляють значно більшу стійкість до патогенетичного впливу дегідратації. У них відносно добре зберігаються синаптичні складки. В субсинаптичній зоні спостерігається значна кількість мітохондрій. Атиповим є те, що в зоні постсинаптичних складок трапляються синаптичні пухирці, які, очевидно, проникають через пошкоджені ділянки аксолеми. Порівняно з аксом'язовими синапсами FG-м'язових волокон зменшення периметра та довжини синаптичного контакту виражені незначно. Це саме стосується активних зон і синаптичних пухирців. У термінальній аксоплазмі останні концентруються в основному вздовж пресинаптичної мембрани. При цьому центральна частина терміналей містить велику кількість агрегованих нейрофіламентів. Цікавим є те, що в цитоплазмі нейролемоцитів з'являються синаптичні пухирці, які інколи містяться в капсулах з двомембранним контуром.

Аксом'язові синапси FOG-м'язових волокон за характером змін займають проміжне положення. Характерною для них є поява постсинаптичних зон із малою кількістю або відсутністю синаптичних складок. У субсинаптичній зоні нерідко трапляються кристалоподібні включення. Мітохондрії субсинаптичної зони і аксоплазми проявляють різні адаптаційні можливості. При цьому одні мають електроннощільний матрикс і добре контуровані кристи, а інші зазнають просвітлення матриксу та дезінтеграції крист. В окремих нейролемоцитах відбувається каріопікноз.

Гістометричні дослідження показали, що в синапсах FOG-м'язових волокон найбільшою мірою зменшується довжина і ширина активних зон, а в ряді випадків відбувається їх фрагментація. Репрезентативним показником є зменшення кількості синаптичних пухирців порівняно як із контролем, так і з попередньою фазою ТДГ.

У II фазі ТДГ втрати Ca^{2+} , Mg^{2+} і Cl^- фіксуються відповідно на рівні 18,94%, 8,91% і 9,78% ($P < 0,05$). Найбільшого зниження зазнають Na^+ і K^+ (різниця з показниками контролю становить відповідно 32,60% і 20,31%), що призводить до зменшення K^+/Na^+ індексу на 14,56% ($P < 0,05$) і чітко відображається на показниках ЕНМГ. Аналіз амплітуди F-хвилі показав, що вона знижується на 16,1% порівняно з нормою і розцінюється нами як електронейроміографічний доказ деструкції НМЗ. При порівняльній оцінці латентності F-хвилі встановлено її збільшення на 28,50% порівняно з нормою ($p < 0,05$), що також вказує на демієлінізуючий характер ураження нервових провідників.

У III фазі (10–14 доба) ТДГ спостерігається деструкція більшості НМЗ, виявляються примітивної форми тонкі терміналі з площею $156,71 \pm 18,56$ мкм², що на 59,14% менше за контрольні показники. В еферентних претермінальних НВ спостерігається масова атрофія аксонів і повна дегенерація мієлінової оболонки. Електронно-оптична щільність аксоплазми в атрофованих аксонах різко знижується. При цьому виявляються тільки поодинокі нейрофіламенти, мікротрубочки відсутні.

Мітохондрії зменшуються в розмірах, їх матрикс ущільнюється, зовнішня мембрана піддається деструкції і втрачає свою цілісність. Термінальні розгалуження аксонів і аксом'язові синапси деструктуризуються, пресинаптичний полюс нервово-м'язових контактів не виявляється, в цих ділянках спостерігаються тільки залишки аксоплазматичних компонентів. При цьому постсинаптичні складки в аксо-м'язових синапсах SO-м'язових волокон повністю розпадаються (рис. 4).

У III фазі ТДГ вміст K^+ і Na^+ продовжує знижуватись, однак інтенсивність його менша, ніж у попередній фазі, і становить 12,6% і 14,2% відповідно ($P < 0,05$). Це збільшує K^+

Na⁺ співвідношення на 4,79% і, порівняно з контролем, цей індекс знижується тільки на 9,77% (P<0,05). Зниження вмісту Ca²⁺, Cl⁻ і Mg²⁺ становить відповідно 10,02%, 12,66% і 9,68% (P<0,05). Ймовірно, це пов'язано з виснаженням адаптаційних механізмів із підтримки водно-сольового балансу м'язової тканини [1,2].

У цій фазі ЕНМГ-зміни найбільше виражені: ШПІ, порівняно з нормою, є нижчою на 79,30%, амплітуда М-відповіді знижується у 2,26 разу, на 28,50% збільшується латентний період і поліфазність F-хвилі, знижується її амплітуда, що вказує на глибоку деструкцію значної частини НМЗ.

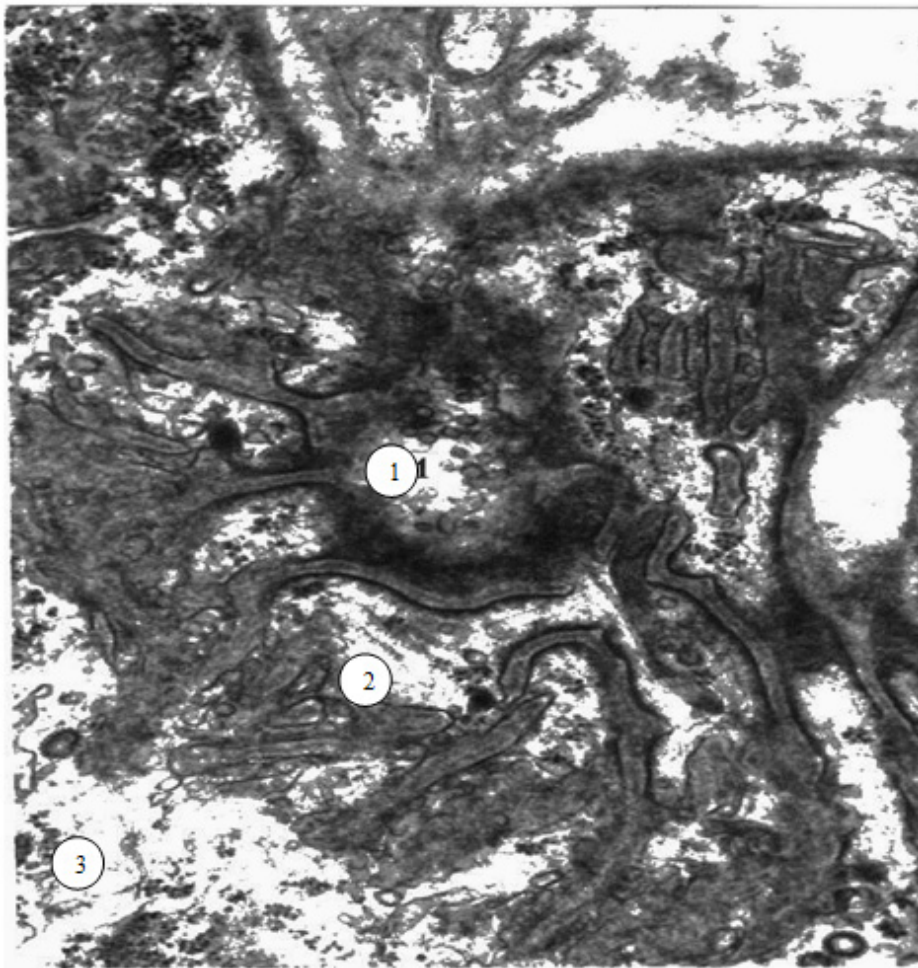


Рис. 4. Деструкція аксом'язового синапсу SO-м'язового волокна після 14 діб ТДГ: 1 – залишки аксоплазми; 2 – постсинаптичні складки; 3 – м'язове волокно. $\times 20000$.

Таким чином, при терморобочій дегідратації організму спостерігаються фазні морфологічні зміни, які свідчать про особливу чутливість НМЗ до зміни водно-сольового балансу в скелетних м'язах, що супроводжується відповідними змінами їх мікроелементного складу і порушенням правильного характеру проведення нервового імпульсу до НМЗ.

Комплексний аналіз вищеописаних показників при ТДГ дав нам можливість узагальнити весь спектр морфофункціональних змін і виділити спільні характеристики, які

лягли в основу періодизації процесів дегідратації, незалежно від ступеня зневоднення: 1) первинно-компенсаторна стадія, при якій структурним слідом адаптації є перебудова і незначна деструктивна зміна НМЗ та електролітної рівноваги, але при вираженому порушенні провідності НВ і збудливості МВ; 2) стадія вторинно-гіпотрофічних реакцій, яка проявляється деструктивними змінами НМЗ, МВ на фоні різкого зниження кількості мікроелементів у скелетному м'язі та ЕНМГ-змінами; 3) стадія виснаження з порушенням тонкої архітектури НМЗ, різким зниженням K^+/Na^+ співвідношення, провідності НВ і збудливості МВ.

Перспективи подальших досліджень полягають у комплексному вивченні морфофункціональних змін НМЗ та їх мікроциркуляторного русла в різні терміни при ЗДГ.

Робота є частиною науково-дослідної теми кафедри анатомії та фізіології людини і тварин "Морфофункціональна характеристика деяких органів та функціонуючих систем в постнатальному періоді онтогенезу в нормі і при деяких патофізіологічних процесах" (номер держреєстрації 0109U001106).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Банин В. В. Механизмы обмена внутренней среды. М.: Изд-во РГМУ, 2000. 276 с.
2. Боголюбов В. А. Патогенез и клиника водно-электролитных расстройств. М.: Медицина, 2008. 428 с.
3. Вдовенко Н. В. Водно-солевой баланс і терморегуляція організму спортсменів та його корекція в умовах жаркого клімату // Актуальні проблеми фізичної культури і спорту. 2007. № 12. С. 54–59.
4. Здюмаева Н. П., Левин В. Н. Роль факторов, определяющих реологические свойства крови в механизмах адаптации и повреждения при водном дисбалансе // Пат. физиология и эксперимент. терапия. 2007. № 1. С. 18–20.
5. Коваль И. В., Вдовенко Н. В., Олейник С. А. Механизмы дегидратации при интенсивной мышечной деятельности и способы её коррекции в тренировочной и соревновательной деятельности спортсменов // Спортивная медицина. 2007. № 2. С. 111–117.
6. European convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg, 1986. 52 p.
7. Thompson R. J., Zhou N. Ischemia opens neuronal gap junction hemichannels // Science. 2006. Vol. 312. P. 924–927.
8. Waller A. P., Heigenhauser G. J., Geor R. J. Fluid and electrolyte supplementation after prolonged moderate-intensity exercise enhances muscle glycogen resynthesis in Standardbred horses // J. Appl. Physiol. 2009. Vol. 106. N 1. P. 91–100.
9. Watts A. G., Boyle C. N. The functional architecture of dehydration-anorexia // Physiol. Behav. 2010. Vol. 100. N 5. P. 472–477.

Стаття: надійшла до редакції 27.03.12

доопрацьована 17.04.12

прийнята до друку 26.04.12

HISTO-ULTRASTRUCTURE DESCRIPTION OF NEUROMUSCULAR ENDINGS OF SKELETAL MUSCLES DURING TERM-WORK DEHYDRATION OF ORGANISM**T. Mosendz**

*Vasyl Stefanyk Precarpathian National University
57, Shevchenko St., Ivano-Frankivsk 76018, Ukraine
e-mail: serg_popel@mail.ru*

The purpose of work consisted in the study of histo-ultrastructure, biochemical that electronuermiograf information about the state of muscular fibres of thigh and their neuromuscle endings direct to the muscle in different terms (3–14 days) of term-work dehydration of organism of rats. Described basic types of reactive and destructive processes in the neuromuscle endings, their division into periods with the selection of separate phases and stages of motion of morpho-functional changes is conducted. The discussion of the got results of research is conducted.

Keywords: dehydration, neuromuscle ending.

ГИСТО-УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ ОКОНЧАНИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ ТЕРМОРАБОЧЕЙ ДЕГИДРАТАЦИИ ОРГАНИЗМА**T. Мосендз**

*Прикарпатский национальный университет имени Василия Стефаника
ул. Шевченко, 57, Ивано-Франковск 76018, Украина
e-mail: serg_popel@mail.ru*

Цель работы состояла в изучении гисто-ультраструктурных, биохимических и электронейромиографических данных о состоянии мускульных волокон прямой мышцы бедра и их нервно-мышечных окончаний в разные сроки (3–14 сутки) терморобочей дегидратации организма крыс. Описаны основные типы реактивных и деструктивных процессов в нервно-мышечных окончаниях, проведена их периодизация с выделением отдельных фаз и стадий хода морфофункциональных изменений. Проводится обсуждение полученных результатов исследования.

Ключевые слова: дегидратация, нервно-мышечное окончание.