

С.Л.Попель

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, Івано-Франківськ

Ключові слова: нервово-м'язові закінчення, гемокapіляр, нейролемоцит, постнатальний період онтогенезу.

Надійшла: 04.09.2012

Прийнята: 22.09.2012

УДК 611.018.861:616-09.17

БУДОВА І КРОВОПОСТАЧАННЯ РУХОВИХ НЕРВОВИХ ЗАКІНЧЕНЬ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Робота є частиною науково-дослідної теми "Структурний слід адаптації елементів простої рефлекторної дуги при гіпокінезії і фізичному навантаженні в онтогенезі" (номер державної реєстрації 0111U000873).

Резюме. Мета роботи полягає у вивченні структури нервово-м'язових закінчень та їх кровопостачання в онтогенезі. Гісто-ультраструктурними методами показано, що у статевозрілих щурів на рівні нервово-м'язових закінчень існує виражений гемато-невральний бар'єр, який визначається структурними особливостями стінки гемокapілярів. В ранній термін постнатального періоду онтогенезу структури гемато-неврального бар'єру незрілі, а його функціональна недостатність компенсується дистанціюванням джерел кровопостачання, що забезпечує достатню морфологічну ізоляцію аксонів від білків і клітинних компонентів крові. У пізні терміни постнатального періоду онтогенезу структури гемато-неврального бар'єру деструктуризуються внаслідок підсилення і генералізації інволюційних процесів, які проходять шляхом апоптозу. Внутрішньоклітинна перебудова нейролемоцитів протягом онтогенезу свідчить про їх активну трофічну функцію, а концентрація синаптичних пухирців в цитоплазмі окремих термінальних нейролемоцитів вимагає перегляду питання про їх роль у функціонуванні гемато-неврального бар'єру на рівні нервово-м'язових закінчень.

Морфологія. – 2012. – Т. VI, № 3. – С. 51-57.

© С.Л.Попель, 2012

Popel S.L. Structure and blood supply of motion neuro-muscles endings of skeletal muscles of rats of a different age.

Summary. Purpose of work consists in the study of structure of the neuro-muscles endings and their blood supply in ontogenesis. It is shown that at the level of the neuro-muscles endings there is the expressed blood-nerve barrier which is determined by the structural features of wall of blood microvessels. In the early period of ontogenesis of structure of blood-nerve barrier immature, and his functional insufficiency is compensated by made distance of sources of blood supply, that provides the sufficient morphological isolation of axons from albumens and cellular components of blood. With age structure of blood-nerve barrier destruction as a result of strengthening and generalization reverse development processes which pass by apoptos. Intracellular alteration of neurolemocytes during ontogenesis testifies to their active trophic function, and concentration of synaps blisters in the cytoplasm of separate terminals neurolemocytes requires comprehension of their role in functioning of blood supply barrier at the level of neuro-muscles endings.

Key words: neuromuscular junction, capillary, neurolemocyte, postnatal period of ontogenesis.

Вступ

Нерівномірність морфо-функціонального розвитку більшості систем організму людини у віковому аспекті, процеси росту і тканинної диференціації в ранньому періоді онтогенезу та деструктивні зміни впродовж пізнього періоду онтогенезу обумовлюють різну стійкість органів і тканин до багатьох несприятливих факторів, наслідком чого є порушення їх функції (Одинцова І.А. і соавт., 2008; Gajda M. et al., 2009; Левицький В.А. та співавт., 2012). Однією з причин відхилень від достатнього рівня розвитку адаптаційного потенціалу організму є порушення функції нервової системи (Смирнов А.А. і соавт., 2000). У багатьох випадках ці порушення

відбуваються внаслідок недостатнього розвитку периферичного нервового апарату скелетних м'язів, що забезпечують підтримку структурного сліду адаптації організму при дії чинників зовнішнього і внутрішнього середовища (Мицкан Б.М. та співавт., 2001).

Як показують дослідження окремих авторів (Михайлов І.В. і соавт., 2009; Богоявленский В.Ф. і соавт., 2011; Левицький В.А. і співавт., 2012) скелетні м'язи певним чином сприймають зовнішню дію, а їх реакція визначається тонічним скороченням м'язових волокон (МВ).

Проблема м'язового тону досить тривалий час, обговорюється в спеціальній літературі (Мицкан Б.М. та співавт., 2001; Prodanov D. et al.,

2007; Gajda M. et al., 2009). На думку ряду фахівців показники тонуусу відображають не тільки механічні властивості м'язів, але й морфофункціональний стан нервово-м'язових закінчень (НМЗ), який, в свою чергу, залежить від стану центральної нервової системи (Смирнов А.А. и соавт., 2000; Мицкан Б.М. і співавт., 2001; Михайлов И.В. и соавт., 2009). У цих роботах показано, що зміну НМЗ можна спостерігати при різних фізіологічних і патологічних станах. В той же час, вікові зміни НМЗ в науковій літературі вивчені недостатньо (Одинцова И.А. и соавт., 2008; Левицький В.А. і співавт., 2012).

Мета дослідження – вивчити структуру нервово-м'язових закінчень та їх кровопостачання в онтогенезі.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на 250 лабораторних щурах, масою тіла від 120 до 300 г у віці 2 (I група), 12 (II група) і 24 (III група) місяців. Для дослідження скелетних м'язів використані гістохімічний, світлооптичний та електронно-мікроскопічний методи. Забір матеріалу і підготовку препаратів здійснювали згідно загальнопо-

рийнятих методик з дотриманням існуючих нормативних положень (Закон України "Про захист тварин від жорстокого відношення" № 1759-VI від 15.12.2009 р.). Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою пакету програм "Statistika 5".

Результати дослідження та їх обговорення

У щурів II вікової групи від 10 до 16 внутрішньо м'язових мієлінових нервових волокон (НВ) різного розміру збираються у пучки діаметром 90-120 мкм, що добре видно на імпрегнованих азотнокислим сріблом гістологічних препаратах (рис. 1). Вони кущоподібно розгалужуються на свої термінальні гілки, кількість яких коливається від 2-3 до 9-10. В середньому кожне НВ дає початок $4,3 \pm 0,08$ терміналям. Їх довжина коливається від 20 до 32 мкм, а діаметр складає 1-4 мкм. Дуже часто вони закінчуються невеликим плоским розширенням округлої або овальної форми. В місці розгалуження НВ втрачають мієлінову оболонку (МО) і терміналі аксонів (А) покривають тільки поодинокі нейролемоцити (НЛ).

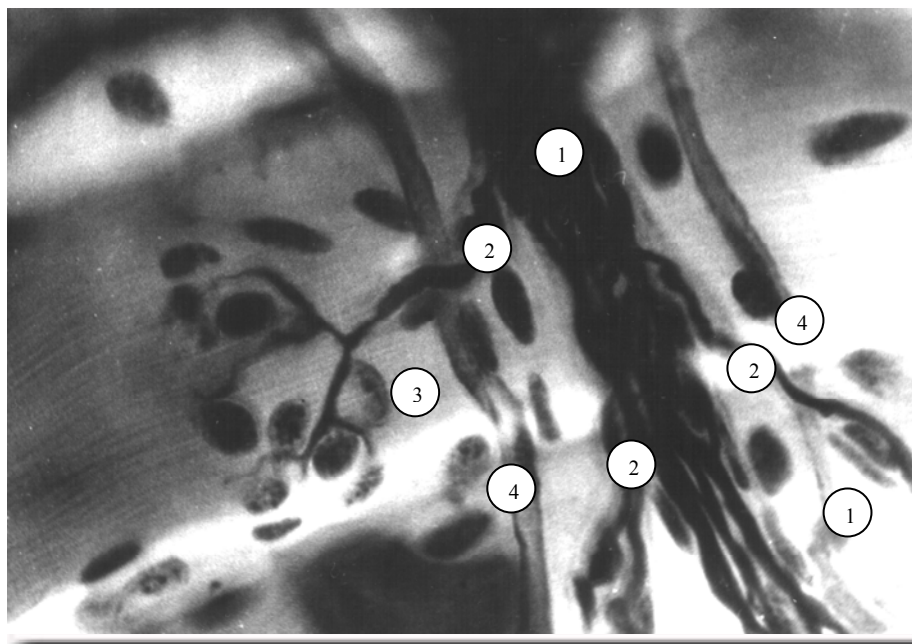


Рис. 1. Топографія внутрішньом'язового пучка мієлінових нервових волокон (1), утворення термінальних розгалужень аксона (2) та їх взаємовідношення з нейролемоцитами (3) і гемокапілярами (4) у камбалоподібному м'язі щура II вікової групи. Імпрегнація за Більшовським-Грос. $\times 630$.

На поверхні окремих МВ кінцеві гілочки НВ утворюють нервово-м'язові закінчення (НМЗ). Поверх них розміщуються НЛ, а під ними ядра МВ. Середньостатистична кількість НМЗ складає $5,4 \pm 0,09$, при середніх показниках площі $735,5 \pm 14,11$ мкм².

Під електронним мікроскопом (рис. 2) аксолема НМЗ утворює пресинаптичну мембрану. В окремих ділянках вона дещо потовщується і утворює активні зони (АЗ). Постсинаптична

мембрана представлена сарколемою, поверхня якої значно збільшується за рахунок густо розташованих субсинаптичних складок. Синаптична щілина заповнюється елементами двох базальних мембран: периаksonальної і периміоцитної, які в межах синаптичної щілини з'єднуються між собою. Аксональний полюс прикривається 1-2 нейролемоцитами, ядро і цитоплазматичні органи яких мають характерну будову.

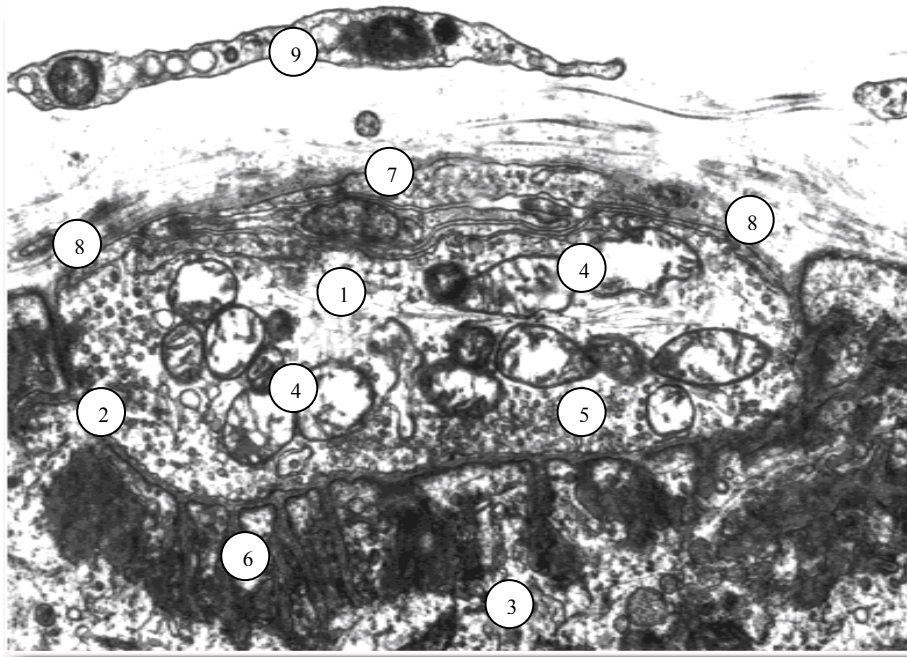


Рис. 2. Ультраструктурна будова аксом'язового синапса камбалоподібного м'яза щура II вікової групи: 1 – пресинаптичний полюс, 2 – синаптична щілина, 3 – постсинаптичний полюс, 4 – мітохондрії, 5 – синаптичні пухирці, 6 – синаптичні складки, 7 – відростки нейролемоцитів, 8 – базальна мембрана, 9 – відросток фібробласта. $\times 15000$.

Аксоплазма термінальних закінчень містить мітохондрії, мікрофіламенти і мікротрубочки, велику кількість синаптичних пухирців. Саркоплазма м'язового полюса заповнюється певною кількістю ядер і мітохондрій.

У порівнянні з дорослими тваринами щури I вікової групи мають певні структурні особливості периферичного нервового апарату скелетних м'язів (рис. 3).

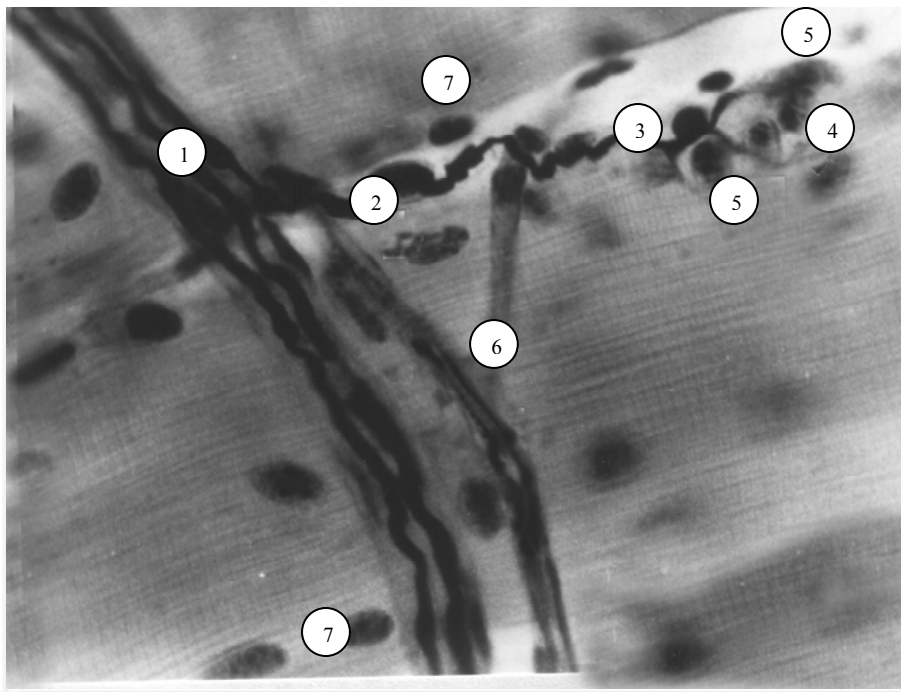


Рис. 3. Внутрішньом'язовий нервовий пучок (а) і нерво-м'язове закінчення (б) щура I вікової групи: 1 – нервовий пучок, 2 – претерміналь, 3 – терміналь, 4 – нерво-м'язове закінчення, 5 – нейролемоцит, 6 – гемокапіляр, 7 – міоядро. Імпрегнація за Більшовським-Грос. $\times 630$.

До них ми відносимо наступні: 1) діаметр внутрішньом'язових пучків НВ на 52,3% менший, а їх кількість – в 1,8 раз більша, ніж у тварин II групи; 2) тільки 11,2% аксонів покриті тонкою МО; 3) нервові терміналі довжиною 10-15 мкм і діаметром 0,5-1,0 мкм мають в середньому $2,3 \pm 0,06$ плоских потовщень,

що в 1,9 раз менше, ніж у щурів II вікової групи; 4) середня площа НМЗ в 2,7 раза менша, вони оточені тільки поодинокими ядрами НЛ і МВ. Слід відзначити, що на окремих МВ ми спо-

стерігали НМЗ утворені терміналами, які беруть початок від різних аксонів, що відображає резервний запас структурних компонентів простої рефлекторної дуги, який в наступних стадіях онтогенезу або набуває функціональної зрілості, або підлягає деструктуризації шляхом апоптозу [4].

Електронно-мікроскопічно складові частини НМЗ у щурів I вікової групи значно відрізняються від таких у дорослих тварин (рис. 4).

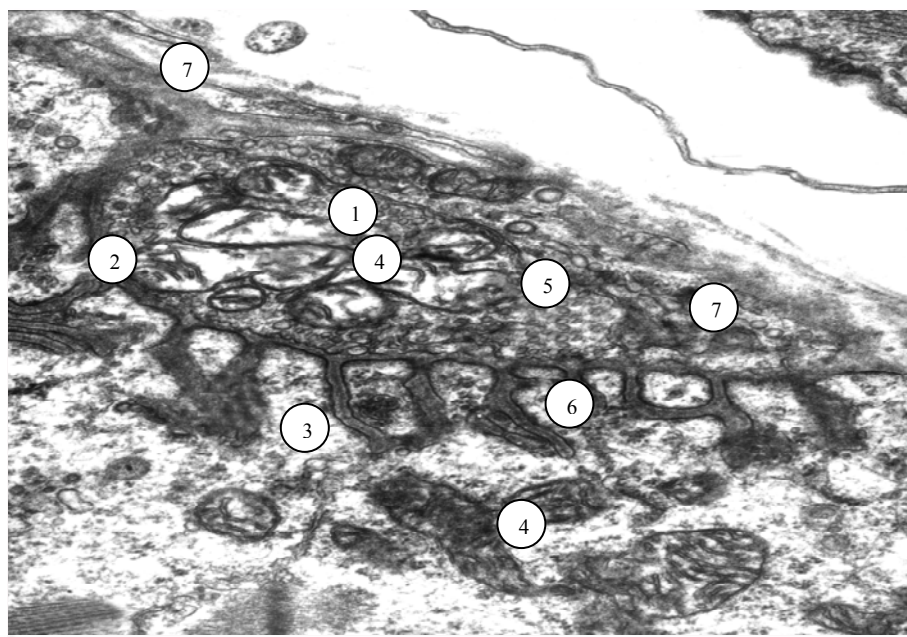


Рис. 4. Ультраструктурна будова аксом'язового синапса камбалоподібного м'яза щура I вікової групи: 1 – пресинаптичний полюс, 2 – синаптична щілина, 3 – постсинаптичний полюс, 4 – мітохондрії, 5 – синаптичні пухирці, 6 – синаптичні складки, 7 – відростки нейролемоцитів. $\times 15000$.

В термінальній аксоплазмі матрикс більшості мітохондрій має низьку електронно-оптичну щільність і містить дезінтегровані кристи. Спостерігається незначна кількість мікротрубочок, мікрофіламентів і синаптичних пухирців. Синаптична щілина вузька, оскільки периаksonальні і периміоцитні базальні мембрани ще структурно неоформлені і місцями у них відсутня трьохшарова будова. Термінальні нейролемоцити мають дрібні ядра, нуклеоплазма заповнюється незначною кількістю хроматину. Цитоплазматичні органели кількісно і якісно відрізняються від аналогічних утворень у щурів II вікової групи: виявляється незначна кількість цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, вільних і прикріплених рибосом. Мітохондрії з просвітленим матриксом і дезінтегрованими кристами, комплекс Гольджі незрілий.

Постсинаптична мембрана утворює тільки розрізнені неглибокі складки. Саркоплазма цієї ділянки містить поодинокі ядра і мітохондії. Для окремих із них характерні зміни, які спостеріга-

ються в мітохондріях аксоплазми нервових терміналей і нейролемоцитів.

В ділянці окремих НМЗ можна помітити НЛ, цитоплазма яких повністю покриває терміналь аксона. В таких терміналах поряд з нормальними і зміненими мітохондріями накопичується значна кількість синаптичних пухирців. Це свідчить про існування недорозвинутого рецепторного апарату і малої кількості АЗ, що значно знижує ефективність процесів виділення медіатора в синаптичну щілину. В таких ситуаціях передача нервового збудження на МВ може здійснюватися за рахунок ацетилхоліну, який концентрується в цитоплазмі термінальних нейролемоцитів (див. рис. 4). На можливість такого механізму активації НМЗ вказують Б.М. Мицкан і співавт. (2001) і В.А. Левицький і співавт. (2012).

У щурів III вікової групи в НМЗ значно підсилюються інволютивні процеси (рис. 5), а в окремих із них вони доповнюються повним розпадом субсинаптичних складок сарколеми і вираженим вкороченням постсинаптичної мембра-

ни, локальними деструктивними змінами периаksonальних і периміоцитних базальних мембран,

частковим або повним розпадом окремих вузлоподібних відгалужень терміналей А.

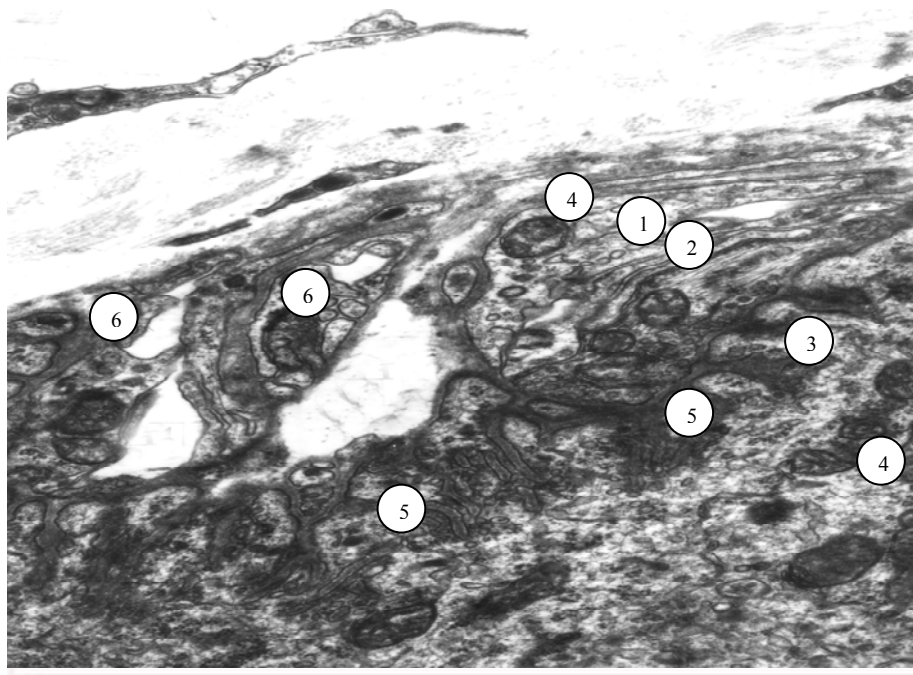


Рис. 5. Ультраструктурна будова аксом'язового синапса камбалоподібного м'яза щура III вікової групи: 1 – пресинаптичний полюс, 2 – синаптична щілина, 3 – постсинаптичний полюс, 4 – мітохондрії, 5 синаптичні складки, 6 – відростки нейролемоцитів. $\times 15000$.

Що стосується кровопостачання НМЗ, то у щурів II вікової групи воно здійснюється за рахунок кровоносного русла внутрішньом'язових нервових пучків. Вони проходять разом з артеріолами діаметром 34-45 мкм (рис. 6 А). У міру розгалуження пучків на претермінальні відділи артеріоли віддають прекапіляри ($d = 14-18$ мкм), які їх супроводжують. Останні внаслідок дихо- або трихотомічного поділу утворюють гемокапіляри ($d=7-10$ мкм). Ці мікросудини формують відкриті і закриті петлі, вилко- і підковоподібної форми, які оточують НМЗ на віддалі 5-25 мкм. Площа гемокапілярного русла знаходиться у прямій залежності від величини НМЗ і складає в середньому $1822,6$ мкм². Від злиття гемокапілярів формуються посткапіляри ($d=16-22$ мкм), кров із яких поступає у спільні із МВ венули ($d=38-50$ мкм).

При субмікроскопічному дослідженні гемокапілярів встановлено, що вони відносяться до соматичного типу (див. рис. 6 Б). Їх просвіт оточений 1-2 ендотеліальними клітинами. В них чітко диференціюються перинуклеарна, периферична і біляконтактна ділянки. Ядра цих клітин мають овальну або бобоподібну форму, каріоплазма в субкаріолемальній зоні містить незначну кількість гранул хроматину. Перинуклеарна зона містить звичайний набір субклітинних органел. Значно менше органел знаходиться в периферичній ділянці ендотеліоцитів, а біляконтактна зона

вміщує тільки окремі органели цитоскелету.

Міжэндотеліальні контакти характеризуються різноманітною будовою: від простих прямолінійних з'єднань до складних інтердигітаційних переплетень. Але в одному і в другому випадках цитолемі сусідніх ендотеліоцитів щільно прилягають одна до одної, утворюючи *macula et zonula occludentes*. Базальна мембрана має властиву їй субмікроскопічну будову. В її розщепленнях розташовуються перицити та їх відростки. Отже, електронно-мікроскопічна будова стінки гемокапілярів та інших мембранних структур, засвідчує наявність в ділянках НМЗ гемато-неврального бар'єру.

На відміну від тварин II вікової групи кровоносне русло НМЗ у щурів I вікової групи має певні особливості. В складі внутрішньом'язових пучків дуже рідко спостерігаються артеріоли діаметром більше 25 мкм. В ділянці НМЗ частіше виявляються дрібні прекапіляри ($d=9-13$ мкм) і гемокапіляри ($d=5-6$ мкм). Вони утворюють навколо НМЗ незамкнуті петлі овальної, кільцеподібної, трикутної або полігональної форми. Внаслідок значно меншого діаметру гемокапілярів судинна сітка має петлі великого розміру, тому окремі відрізки гемокапілярів знаходяться на відстані більше 25 мкм від НМЗ, а площа такого перисинаптичного гемокапілярного русла в 5,3 раза менша від аналогічних показників у щурів II вікової групи.

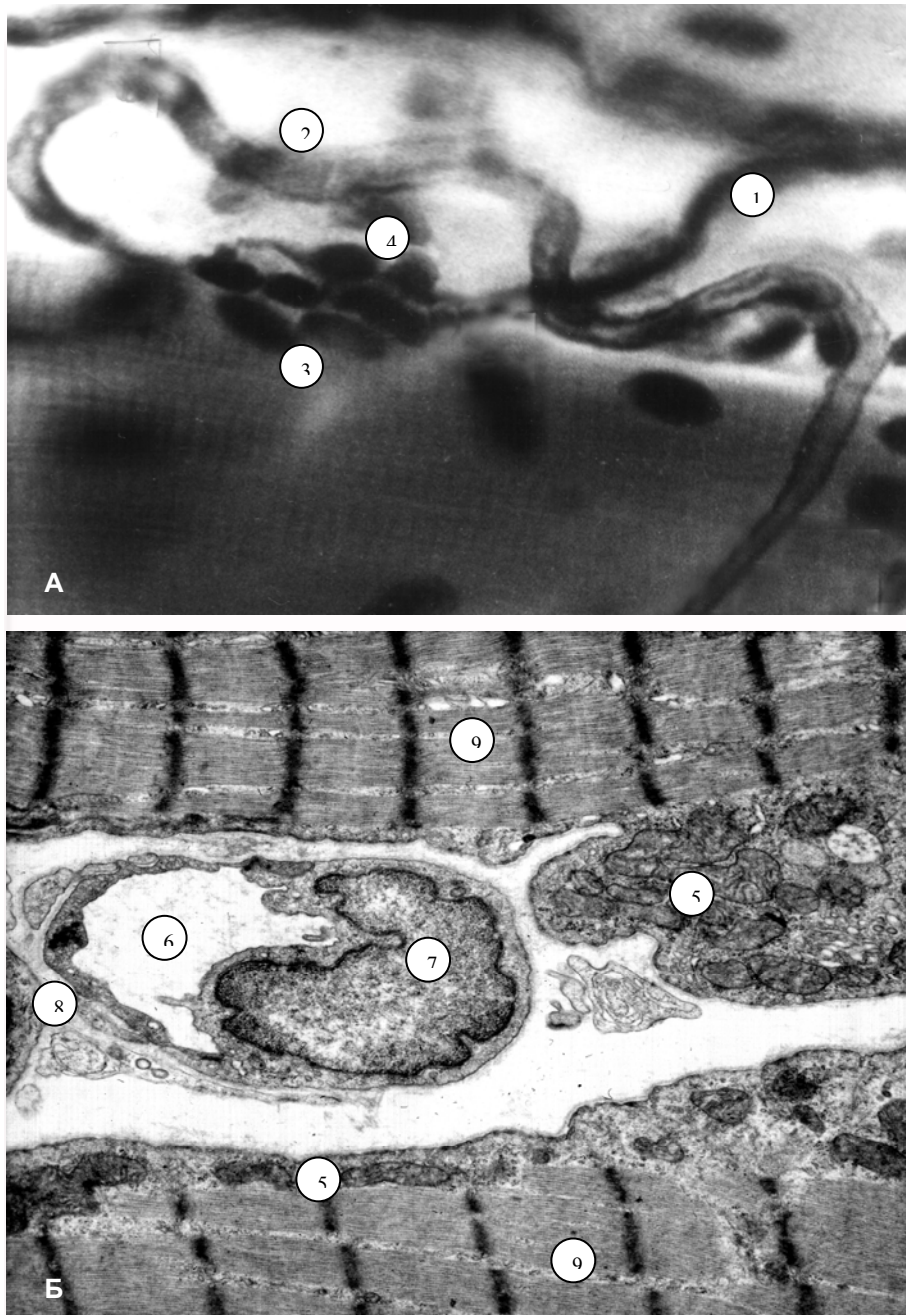


Рис. 6. Гістологічна (а) та ультраструктурна (б) будова гемокапілярів камбалоподібного м'яза щура II вікової групи: 1 – термінальне нервово волокно, 2 – капілярна петля, нервово-м'язове закінчення, 3 – нейролемоцит, 4 – ядро м'язового волокна, 5 – просвіт гемокапіляра, 6 – ядро ендотеліоцита, 7 – базальна мембрана, 8 – саркоплазма. $\times 10000$.

Субмікроскопічно просвіт гемокапілярів нерівномірний, оточений одним ендотеліоцитом, цитоплазма якого займає значний об'єм. Ядра ендотеліоцитів мають округлу або овальну форму і містять щільні гранули хроматину. Малодиференційовані органели в незначній кількості розташовуються у перинуклеарній зоні. Деяким мітохондріям властиві просвітлений матрикс і дезінтегровані кристи. Люменальна поверхня ендотеліоцитів має помірну кількість мікрровиростів. Міжєндотеліальні контакти частіше всього мають просту прямолінійну будову, відкриті на всьому протязі. У базальній мембрані місцями

відсутня трьохшарова будова, за рахунок чого вона звужується і навіть перфорується. Така будова мембранних структур дає нам змогу зробити висновок, що у щурів I вікової групи НМЗ не захищені гемато-целюлярним бар'єром.

Субмікроскопічна будова стінки капілярів у щурів III вікової групи характеризується втратою щільних контактів між сусідніми ендотеліоцитами і фокусними деструктивними явищами зі сторони базальної мембрани.

Висновки

1. Нервово-м'язові закінчення протягом постнатального періоду онтогенезу зазнають певної

структурної перебудови, що тісно корелює із особливостями їх кровопостачання.

2. Структурні особливості стінки гемокапілярів в ділянці НМЗ у дорослих тварин свідчать про існування виразного гемато-неврального бар'єру. У молодих щурів структури гемато-неврального бар'єру незрілі і його функціональна недостатність компенсується дистанціюванням джерел кровопостачання, що забезпечує достатню морфологічну ізоляцію аксом'язових синап-

сів. У щурів III вікової групи мембранні структури гемато-неврального бар'єру деструктуризуються внаслідок підсилення і генералізації інволюційних процесів, які проходять шляхом апоптозу.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні закономірностей диференціації нервово-м'язових закінчень в залежності від фенотипу м'язових волокон.

Літературні джерела

Богоявленский В.Ф. Клинические аспекты изучения микроциркуляции: итоги и перспективы / В.Ф. Богоявленский, О.В. Богоявленская // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 92, № 2. – С. 145–151.

Закон України “Про захист тварин від жорстокого відношення” № 1759-VI від 15.12.2009 р.

Лебедев С. В. Транслокация макромолекул через гемато-энцефалический барьер / С. В. Лебедев, С. В. Петров, А. И. Волков [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2007. – № 6. – С. 37–50.

Левицький В.А. Вікові особливості нейроногліальних співвідношень у рухових центрах соматичної рефлекторної дуги в нормі і при гіпокінезії / В.А. Левицький, С.Л. Попель, Б.М. Мицкан // Вісник проблем біології і медицини – 2012. – Т.1 (92), № 2. – С. 18–23.

Михайлов И.В. Возможности исследования состояния периферического нервно-мышечного аппарата человека в клинике и эксперименте / И.В. Михайлов, П.В. Ткаченко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований – 2009. – № 5. – С. 25–28.

Мицкан Б.М. Нервово-м'язовий апарат і гіпокінезія / Б.М. Мицкан, С.Л. Попель // Концепція розвитку галузі фізичного виховання і спорту

в Україні: зб. наук. праць Міжнародного університету «РЕГІ» ім. Степана Дем'янчука. – Рівне «Прайт хауз», 2001. – Вип. 2. – С. 148–151.

Одинцова И.А. Дифференцировка мышечных волокон в ходе формирования нервно-мышечных взаимоотношений / И.А. Одинцова, Д.Р. Слуцкая, М.Н. Чепурненко // Морфология. – 2008. – Т. 133, № 2. – С. 98–99.

Смирнов А.В. Изменение структуры периферических отделов нервной и эндокринной систем растущего организма под влиянием гиподинамии и гипокинезии / А.В. Смирнов, Д.А. Чернов, Н.Ю. Иванаускаене // Морфология. – СПб., 2000. – Т. 117, № 3. – С. 112.

Growth-modulating molecules are associated with invading Schwann cells and not astrocytes in human traumatic spinal cord injury / A. Buss, K. Pech, B.A. Kakulas [et al.] // Brain J. Neurol. – 2007. – V. 130, № 4. – С. 940.

Development of nerve fibres in rat tibia / M. Gajda, J. A. Litwin, O. Zagólski [et al.] // Anat. Histol. Embryol. – 2009. – V. 38, № 2. – С. 112–117.

Prodanov D. Morphometric analysis of the fiber populations of the rat sciatic nerve, its spinal roots, and its major branches / D. Prodanov, H.K. Feirabend // Comp. Neurol. – 2007. – № 5. – P.85 – 100.

Попель С.Л. Строение и кровоснабжение двигательных нервных окончаний скелетных мышц крыс разного возраста.

Резюме. Цель работы заключается в изучении структуры нервно-мышечных окончаний и их кровоснабжения в онтогенезе. Гисто-ультраструктурными методами показано, что у половозрелых крыс на уровне нервно-мышечных окончаний существует выраженный гемато-невральный барьер, который определяется структурными особенностями стенки гемокапилляров. В ранние сроки постнатального периода онтогенеза структуры гемато-неврального барьера незрелые, а его функциональная недостаточность компенсируется дистанционированием источников кровоснабжения, что обеспечивает достаточную морфологическую изоляцию аксонов от белков и клеточных компонентов крови. В поздних сроках постнатального периода онтогенеза структуры гемато-неврального барьера деструктуризируются в результате усиления и генерализации инволюционных процессов, которые проходят путем апоптоза. Внутриклеточная перестройка нейролемоцитов на протяжении онтогенеза свидетельствует об их активной трофической функции, а концентрация синаптических пузырьков в цитоплазме отдельных терминальных нейролемоцитов требует пересмотра вопроса об их роли в функционировании гемато-неврального барьера на уровне нервно-мышечных окончаний.

Ключевые слова: нервно-мышечные окончания, гемокапилляр, нейролемоцит, постнатальный период онтогенеза.