

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

**З. М. Ящишин<sup>1</sup>, С. Л. Попель<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Івано-Франківський національний медичний університет;  
кафедра патофізіології; м. Івано-Франківськ, Україна;  
e-mail: patfisiology@ifnmti.edu.ua;

<sup>2</sup>Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника;  
кафедра теорії і методики фізичного виховання і спорту;  
м. Івано-Франківськ, Україна

**Мета роботи:** вивчити динаміку гістологічних та ультраструктурних змін м'язових волокон та їх нервово-м'язових закінчень в умовах довготривалої гіпокінезії на різних етапах онтогенезу.

**Матеріал і методи дослідження.** Вивчали скелетні м'язи та їх периферійний нервовий апарат у лабораторних щурів-самців лінії Вістар у віці від 30 до 270 діб. Обмеження рухової активності проводили в спеціальних клітках-пеналах протягом 30, 60, 90, і 240 діб (по 5 тварин на кожний термін). Для визначення типу м'язового волокна застосований гістохімічний метод за Нахласом, для виявлення мієлінових нервових волокон метод Кульчицького, для виявлення нервово-м'язових закінчень метод Більшовського-Грос та електронно-мікроскопічний метод.

**Результати роботи.** Дані гістологічного та електронно-мікроскопічного дослідження м'язових волокон скелетних м'язів та їх нервово-м'язових закінчень в умовах довготривалої гіпокінезії вказують на їх закономірну перебудову в процесі розвитку м'язів, становлення їх синапсів і структур, які з ними пов'язані на різних етапах онтогенезу.

**Висновок.** Проведене дослідження дає поглиблену уяву про відносну частоту і характер порушення нервово-м'язових закінчень при довготривалій гіпокінезії та її вплив на динаміку структурної перебудови окремих типів м'язових волокон в онтогенезі.

**Ключові слова:** гіпокінезія, нервово-м'язове закінчення, синапс, м'язове волокно.

**Постановка проблеми та аналіз досліджень.** Розвиток і життєдіяльність людського організму нерозривно пов'язані з його руховою активністю [3]. Вона визначає нормальний ріст і розвиток організму, сприяє найбільш повній реалізації генетичного потенціалу, становленню і формуванню вегетативних функцій [13]. Будучи негентропійним фактором, рухова активність (РА), починаючи з ранніх етапів онтогенезу,

поступово збільшує адаптаційні ресурси організму та його фізичну працездатність [3]. У межах допустимого діапазону вона створює основу, яка необхідна для оптимуму існування організму в умовах зовнішнього середовища. При відсутності РА відбувається обмеження ростових факторів, що викликає цілий комплекс морфо-функціональних та біохімічних змін в усіх органах і системах [7]. Відомо, що в умовах гіпокінезії (ГК) різко зменшується функція скелетних м'язів, яка призводить до атрофії м'язових волокон [9]. При цьому залишається не вивченим питання перебудови нервово-м'язових закінчень в умовах пониженої рухової активності.

Тому **метою** нашого дослідження було вивчення динаміки гістологічних та ультраструктурних змін аксо-м'язових синапсів в умовах довготривалої гіпокінезії в різних етапах онтогенезу.

**Матеріал і методи дослідження.** Об'єктом дослідження служили скелетні м'язи лабораторних щурів-самців лінії Вістар різного віку (від 30 до 270 діб). З метою вивчення ГК на ріст та диференціацію скелетних м'язів та їх нервово-м'язових закінчень (НМЗ) були проведені експерименти по обмеженню РА нетренованих тварин протягом 30, 60, 90, і 240 діб (по 5 тварин на кожний термін). Контрольну групу склали 20 щурів-самців, які знаходились в умовах віварію при звичайному руховому режимі і виводились з експерименту в ті самі терміни.

Для дослідження скелетних м'язів та їх периферійного нервового апарату використані гістохімічний метод за Нахласом (для визначення типів м'язових волокон), гістологічні (забарвлення гематоксиліном і еозином), за Кульчицьким (для виявлення мієлінових нервових волокон), Більшовським-Грос (для виявлення нервово-м'язових закінчень) та електронно-мікроскопічний методи.

Статистичну обробку морфометричних даних проводили за допомогою програми "Statistica 6".

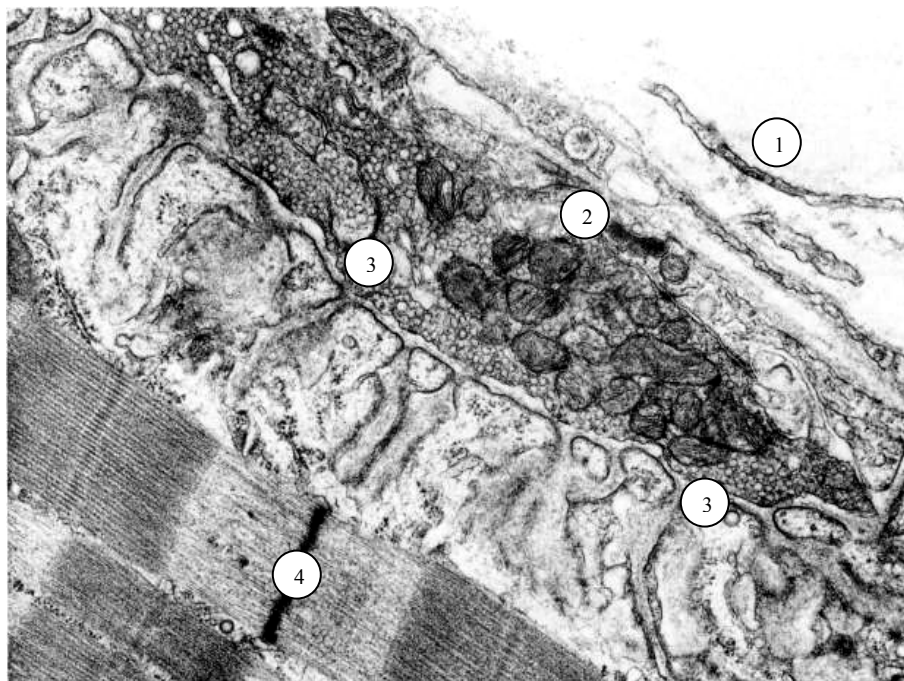
**Результати дослідження та їх обговорення.** Проведені нами дослідження показали, що реакція НМЗ на ГК проявляється на всіх рівнях їх структурної організації і має чітко виражену динаміку. Після 30 діб ГК в претермінальних ділянках утворюються варикозні розширення мієлінових нервових волокон (МНВ), зменшується площа розгалуження термінальних гілок рухового аксону, які утворюють пресинаптичний полюс аксо-м'язових синапсів (АМС).

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

В аксо-м'язових синапсах зменшується периметр терміналей аксону, довжина синаптичних контактів, ширина та довжина активних зон пресинаптичної мембрани, проте збільшується кількість синаптичних

везикул, просвітлюється матрикс мітохондрій і фрагментуються кристи. Це пов'язано з реакцією на бездіяльність м'язового волокна, коли немає “запиту” на ацетилхолін і відповідно на енергетичне забезпечення його передачі через пресинаптичну мембрану [11]. З боку постсинаптичних структур необхідно відзначити збільшення відстані між синаптичними складками, що обумовлено їх частковою деструкцією (рис. 1).

Порівняння ультраструктури кінцевих нейролемоцитів контрольних і піддослідних тварин показало низку характерних змін, які свідчать про розвиток стрес-реакції в цих клітинах у відповідь на ГК [4].



1 – кінцевий нейролемоцит; 2 – синаптичний полюс; 3 – синаптичні складки; 4 – міофібрили.

Рис. 1. Ультраструктурна організація аксо-м'язового синапсу прямого м'язу стегна щура після 30 добової гіпокінезії

З аналізу наших даних і даних наукової 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 ГК по ходу еферентних мієлінових волокон, і особливо їх претермінальних відділів, зростає частота і величина варикозних розширень, зменшується спраутинг рухових аксонів. При електронно-мікроскопічному дослідженні у мієлінових волокнах розширюється периаksonальний простір, в аксоплазмі зростає ступінь агрегації філаментозно-тубулярних структур, що дозволяє говорити про порушення аксонного транспорту [2].

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 [10]. При цьому в цитоплазмі нейролемоцитів з’являється значна кількість вакуолей, МО має множинні ділянки набряку і розшарування її ламел. Деградація МО є показником глибокого порушення обміну фосfolіпідів [4].

В АМС 60 добова ГК викликає дезінтеграцію більшості складок постсинаптичної мембрани, розширення синаптичної щілини і вrostання в неї відростків кінцевих нейролемоцитів. У 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 [6, 8], у якому беруть участь мітохондрії, то можна припустити, що атрофія м’язових волокон (МВ), зумовлена порушенням активного транспорту нейромедіатора внаслідок порушеного енергозабезпечення передачі нервового імпульсу [14]. При цьому відомо, що морфологічним субстратом порушення окислювального фосфорилування є фрагментація і редукція крист, яка проявляється зниженням активності сукцинатдегірагенази. Набухання мітохондрій в окремих ділянках АМС, очевидно, є результат компенсаторно-приспосувальної реакції, яка спрямована на підсилення їх функціональної активності.

Підтвердження цього положення можна знайти в роботі В. А. Пастухової [10], у якій встановлено зростання синтетичних процесів у набряклих мітохондріях. При цьому на 40,0% зменшується периметр терміналів, а довжина синаптичного контакту на 73,3%.

Відомо, що число везикул нейромедіатора і кількість мітохондрій в пресинаптичному терміналі аксону залежить з однієї сторони від синаптичної активності нейрона [4], з іншої – від аксонного транспорту [2], з третього – від активності м’язової тканини [11]. Отримані нами дані свідчать про зниження інтенсивності цих процесів в умовах ГК. У постсинаптичному відділі зменшується (до 64,89%) кількість синаптичних складок, відстань між ними зростає (у 2 рази), ширина та довжина активних зон зменшується 46,6%. Вищеописані зміни характерні для всіх типів МВ, однак на даному етапі експерименту найбільшу стабільність до патогенетичного впливу ГК виявляють повільні оксидативні МВ, найнижчу – швидкі гліколітичні МВ, у той час як швидкі окисно-гліколітичні МВ займають проміжне положення.

Продовження тривалості ГК до 90 діб призводить до дегенеративного розпаду окремих еферентних волокон і термінальних розгалужень рухового аксону, що викликає денервацію МВ. При цьому їх структурна цілісність деякий час може підтримуватись мембранними рецепторами

інсуліну, кількість яких зростає при денервації [15]. Відмічено, що в ділянці НМЗ зростає кількість нейролемоцитів і посилюється 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 АМС швидких гліколітичних МВ терміналі рухових аксонів переобтяжені синаптичними пухирцями, що свідчить про хронічне порушення механізму екзоцитозу ацетилхоліну через пресинаптичну мембрану. Аналогічне явище спостерігається при розвитку міастенічного синдрому [12]. Їх кількість на весь зріз через активну зону синапса зростає на 58,0% порівняно з контрольними показниками і в 3,5 рази 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 АМС швидких окисно-гліколітичних та повільних окисних МВ 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 у постсинаптичній мембрані. Зменшення складок мембрани веде до звуження її площі, а значить і до зниження кількості холінорецепторів, зникнення додаткової площі для інактивації медіатора з допомогою ацетилхолінестерази та зменшення кількості Na-K-АТФ-ази, яка забезпечує місцеву реполяризацію постсинаптичної мембрани [7]. Цікавим є те, що пресинаптична мембрана в цій ситуації забезпечує екзоцитоз ацетилхоліну як в активних, так і в неактивних зонах.

Подібне явище описане в роботі Е. М. Волкова і співавторів, [2] при дії токсинів, які блокують екзоцитоз медіатора.

Особливість будови АМС 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 аксон-нейролемоцитні і аксон-аксонні щільні контакти. Враховуючи динаміку утворення вторинних синапсів і вищенаведені дані, необхідно зробити висновок про участь нейролемоцитів у процесі реінервації МВ. Ми припускаємо, що після руйнування аксонних терміналей нейролемоцити приступають до синтезу і структуризації в матриксі синаптичної щілини речовини або речовин, які визначають запуск механізмів росту аксону, а потім – його гальмування при контакті з базальною пластинкою колишнього АМС. Такими факторами можуть бути речовина Р, фактор росту аксонів тощо [15]. Однак

утворення ефективних АМС і довготривале підтримання їх нормальної структури в умовах гіпокінезії неможливе, оскільки вимагає впливу прогностичних м'язових факторів – міотрофінів. За умов пригнічення фізіологічної регенерації МВ при обмеженні рухової активності аксони, хоч і не іннервують “стару” базальну пластинку, але пробувши на ній деякий час зникають із зони колишнього АМС.

Обмеження РА протягом 240 діб веде до масивного руйнування НМЗ, гомогенізації МО, атрофії аксонів. Аксоплазма просвітлена, у ній відсутні нейрофіламенти та інші специфічні включення. Такі дегенеративні зміни свідчать про суттєве порушення в системі аксонного транспорту. Відомо, що нейротрофічний вплив мотонейрона на МВ значною мірою залежить від системи аксонного транспорту [2, 4, 12]. Тому деструктуризацію аксоплазми при ГК 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 [15].

У нервово-м'язових закінченнях термінальні розгалуження руйнуються, у 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 [9]. Отримані нами результати показують, що при ГК 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 поперечно-мугастого м'язу. У зв'язку з тотальною деструкцією ультраструктур АМС на даному етапі експерименту гістометричні дослідження провести не вдалося.

Що стосується синапсів МВ із збереженою структурою, то для їх терміналей характерним є периферичне розташування синаптичних пухирців з одночасним утворенням обширних пустот в центральній частині терміналі. Синаптичні везикули через пошкоджені ділянки пресинаптичної мембрани попадають в субсинаптичну зону, яка як і на попередньому етапі дослідження, має примітивну архітектуру.

Таким чином проведене нами дослідження дає поглиблену уяву про відносну частоту і характер порушення НМЗ при довготривалій ГК та її вплив на динаміку структурної перебудови окремих типів МВ в онтогенезі.

**Висновок.** Таким чином проведене нами дослідження дає поглиблену уяву про відносну частоту і характер порушення нервово-м'язових закінчень при довготривалій гіпокінезії та її вплив на динаміку структурної перебудови окремих типів м'язових волокон в онтогенезі.

**Перспективи подальших досліджень у даному напрямку.**

Дослідити динаміку гістологічних та ультраструктурних змін м'язових волокон та їх нервово-м'язових закінчень в умовах фізичного навантаження та дії фізичних факторів, зокрема, лазерного випромінювання на організм.

**Література**

1. Активність антиоксидантної системи в еритроцитах та м'язовій тканині при довготривалій гіпокінезії / С.Л. Попель, Б.М. Мицкан, Т.С. Мицкан [та ін.] // Лікарська справа. Врачебное дело. – 2017. – № 8. – С.149–153.
2. Волков Е. М., Полетаев Г. И. Влияние блокады аксонного транспорта на токи концевой пластинки мышечных волокон лягушки // Нейрофизиология. – 2005. – Т.17, № 2. – С. 201-211.
3. Гипокинезия и гиперкинезия как факторы риска в экстремальных условиях / Т.М. Нарымбетова, К.С. Орманбаев, Б.У. Байзакова [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 5. – С. 64–66.
4. Геращенко С. Б. Зміни периферійних нервів та їх гемомікроциркуляторного русла при експериментальній етопозид-індукованій нейропатії / С.Б. Геращенко, О.І. Дельцова // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 28–32.
5. Изменение активности щелочной фосфатазы у животных при гипокинезии/ Биологический журнал Армении. – 2012. – Т. 64, № 2. – С. 46.
6. Клеточные реакции и система антиоксидантной защиты при длительной гипокинезии/ С.Л. Попель, З.В. Дума, О.В. Баскевич, Н.И. Полянская // Современные здоровьесберегающие технологии. – 2016. – №3. – С. 131–140.
7. Лихограй Л. И. Гипокинезия и гиподинамия/ Л.И. Лихограй, Е.С. Уколова, А.В. Дробинина // Вестник научных конференций. – 2018. – № 12. – С. 66–67.
8. Маркин А. А. Перекисное окисление липидов и состояние антиоксидантной защиты в динамике эксперимента с 370-суточной антиорто-статической гипокинезией / А.А. Маркин, О.А. Журавлева, Д.С. Кузичкин // Медицина труда и промышленная экология. – 2015. – № 9. – С. 92–94.
9. Михайлов В. Б. К механизму нарушений нейротрофической регуляции функциональных свойств саркоплазматических мембран мышечных клеток // Нарушения механизмов регуляции и их коррекция. – Кишинев, 2009. – Т. 2. –545 с.
10. Пастухова В. А. Особливості будови мітохондрій скелетних м'язів при фізичному навантаженні в експерименті / В.А. Пастухова // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2016. – Т.15, № 1. – С.58–62.
11. Перебудова тканин скелетних м'язів, легень та серця щурів за умов гіпоксії навантаження в експерименті / К.В. Розова, Т.В. Болгова,

- К. Р. Тимошенко [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2016. – Т. 62, №6. – С.72–80.
12. Попель С. Л. Особенности реакции элементов простой рефлекторной дуги при физической нагрузке после длительного гипокинезии / С.Л. Попель // Вестник Мозырского государственного педагогического университета им. И.П. Шамякина. – 2013. – № 4. – С. 49–57.
13. Стельникова И. Г. Надпочечники при адаптации организма к двигательным нагрузкам и гипокинезии (экспериментально-морфологическое исследование) / И.Г. Стельникова // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2010. – № 5. – С.103–109.
14. Харибегашвили А. С. Электромиография одиночных мышечных волокон / А.С. Харибегашвили // Міжнародний неврологічний журнал. – 2010. – № 5. – С. 99–102.
15. Heath J. W., Inuzuka T., Quarles R. H. Distribution of P protein and the myelin-associated glycoprotein in peripheral nerves from Trembler-mice // J. Neurocytol. – 2011. – Vol.20, № 6. – P. 439–449.

*Стаття надійшла до редакційної колегії 27.11.2019 р.  
Рекомендовано до друку д.м.н., професором Семчуком Я.М.,  
д.м.н., професором Волошиним О.І. (м. Чернівці)*

## HISTOMETRIC AND ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF THE NERVIMUSCULAR TERMINALS OF SKELETAL MUSCLES AT A HYPOKINESIA

**Z. M. Yaschyshyn<sup>1</sup>, S. L. Popel<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Ivano-Frankivsk National Medical University;  
Department of Pathophysiology; Ivano-Frankivsk, Ukraine;  
e-mail: patfisiology@ifnmu.edu.ua;*

<sup>2</sup>*Precarpathian University named after Vasyl Stefanyk;  
Department of Theory and Methodology of Physical Education and Sports;  
Ivano-Frankivsk, Ukraine*

**The aim:** *to study the dynamics of histological and ultrastructural changes in muscle fibers and their neuromuscular endings under conditions of prolonged hypokinesia at different stages of ontogenesis.*

**Methods.** *Studied skeletal muscles and their peripheral nervous apparatus of laboratory male Wistar rats aged 30 to 270 days. The restriction of motor activity was carried out in special canister cells for 30, 60, 90, and 240 days (5 animals for each term). To determine the type of muscle fiber, the Nahlas histochemical method was used, the Kulchitsky method was used to detect myelinated nerve fibers, the Bilshovsky-Gros method and the electron microscopic method to identify neuromuscular endings.*



---

**Results.** *The data of histological and electron microscopic examination of skeletal muscle fibers and their neuromuscular endings under conditions of prolonged hypokinesia indicate their regular restructuring during the development of muscles, the formation of their synapses and structures that are associated with them at different stages of ontogenesis.*

**Conclusion.** *The study provides an in-depth understanding of the relative frequency and nature of the disturbance of the neuromuscular endings during prolonged hypokinesia and its effect on the dynamics of structural adjustment of individual types of muscle fibers in ontogenesis.*

**Key words:** *hypokinesia, nervimuscular bond, synapse, muscular fiber.*