

СОСТОЯНИЕ МЫШЦ ЯЗЫКА И ЕГО ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО НЕРВНО-МЫШЕЧНОГО АППАРАТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Левицкий В.А., Атаманчук О.В.

Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Ивано-Франковск, Украина

Целью исследования было изучить динамику морфологических изменений нервно-мышечных окончаний языка при экспериментальном сахарном диабете I типа. В эксперименте на 45 крысах-самцах с применением гисто-ультраструктурных методов установлено, что изменения нервно-мышечных окончаний зависят от длительности диабета и носят реактивно-дистрофический характер. Неодинаковая степень их выраженности связана с композицией мышц языка, при этом установлено, что мышечные волокна промежуточного типа наиболее чувствительны к гипергликемии. С изменениями в мышечных волокнах тесно коррелируют повреждения оргanelл в нервно-мышечных окончаниях.

Ключевые слова: сахарный диабет, нервно-мышечное окончание, язык.

Введение. Экспериментальный стрептозотоциновый сахарный диабет (ЕССД) является аналогом сахарного диабета I типа и сопровождается гипергликемией разной степени тяжести. Проблеме влияния гипергликемии на различные ткани и органы посвящен целый ряд научных исследований [2, 5]. Известно, что при сахарном диабете изменяется не только метаболизм мышц, но и их структура [4, 10]. Особо место среди проявлений данной патологии занимает поражение нервно-мышечного аппарата [7, 8]. В настоящее время сведения об изменениях двигательных нервно-мышечных окончаний (НМО) языка при сахарном диабете фрагментарны и требуют обобщения [4, 6]. В свете современных запросов практической нейростоматологии изучение механизмов структурно-адаптивных изменений в отдельных структурных компонентах языка при ЕССД представляют значительный интерес [2,3].

Цель работы – изучить структурную перестройку мышечных волокон и нервно-мышечных окончаний языка при экспериментальном стрептозотоциновом сахарном диабете.

Материал и методы исследования. Исследовали язык 45 лабораторных крыс линии Вистар. Контрольная группа состояла из 5 интактных животных. Сахарный диабет моделировали путём внутрибрюшинного введения 0,1 мл раствора стрептозотина [9]. Животных в период исследования удерживали на стандартном рационе вивария, все манипуляции с ними проводились в соответствии с Положением “Правила поведения с экспериментальными животными” и “Общие этические принципы экспериментов на животных”. Животных выводили из эксперимента через 2, 4, 6 и 8 недель. Для исследования мышечных волокон (МВ) языка использовали гистологический (импрегнация по Бильшовскому-Грос) и электронно-микроскопический методы. Для выявления мышечных волокон разного фенотипа на свежемороженых срезах выявляли активность сукцинатдегидрогеназы по Нахласу. Результаты исследования обработаны статистическими методами.

Результаты исследования и их обсуждение. Через 2 недели ЕССД ядра МВ имеют множественные инвагинации кариолеммы, хроматин конденсирован преимущественно на периферии нуклеоплазмы. При этом саркоплазма имеет пониженную электронно-оптическую плотность и содержит большое количество вакуолей, частично теряется поперечная исчерченность. Такие изменения характерны преимущественно для МВ промежуточного типа. В претерминаль-

ных участках уменьшается спраутинг двигательного аксона (рис. 1 а). При этом образуются варикозные расширения миелиновых нервных волокон (МНВ), что на ультраструктурном уровне связано с расщеплением миелиновой оболочки (МО) (рис. 1 б). Происходит вакуолизация цитоплазмы нейролеммоцитов, расширяется периаксональное пространство, а в аксонах уменьшается плотность матрикса митохондрий.

В НМО уменьшается периметр терминалей аксона, длина синаптических контактов, ширина активных зон, количество синаптических пузырьков, фрагментируются кристы митохондрий, увеличивается расстояние между синаптическими складками.

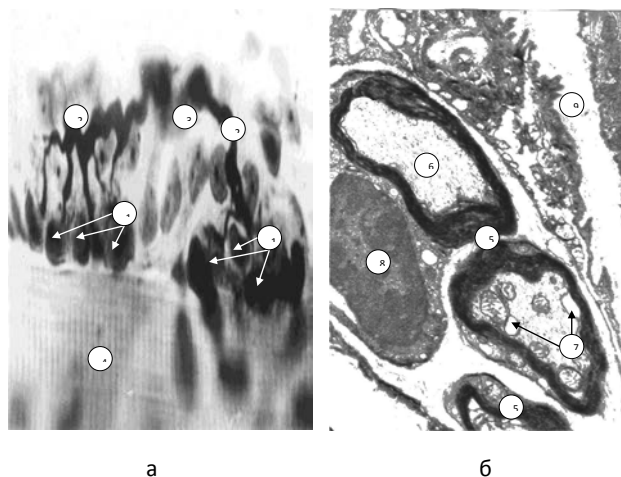


Рисунок 1 - Гисто- (а) и ультраструктурная (б) организация периферического нервного аппарата языка крысы через 2 недели ЕССД: 1 – конечные глиоциты, 2 – терминальные разветвления, 3 – варикозное расширение претерминалей, 4 – мышечное волокно, 5 – миелиновая оболочка, 6 – аксон, 7 – периаксональное пространство, 8 – ядро нейролеммоцита, 9 – гемокapилляр

Метод: а – импрегнация по Бильшовскому-Грос.

Ок. х 7, об. х 40

б – трансмиссионная электронная микроскопия.

Ув.: 6000

Через 4 недели ЕССД в МВ нарастает отёк саркоплазмы, который вызывает расслоение миофибрилл. В 25,0% случаев в МВ промежуточного типа наблюдаются ядра со значительным уменьшением осмиофильности нуклеоплазмы, что можно рассматривать

как проявление функционального истощения ядра. В МНВ наряду с вышеупомянутыми изменениями возрастает степень агрегации филаментозно-тубулярных структур в аксоплазме, что позволяет говорить о нарушении аксонного транспорта [1, 7]. Агрегация микротрубочек и нейрофиламентов может проходить в условиях повышенной кислотности аксоплазмы. Такое “закисление”, очевидно, является результатом изменённой функции нейролеммоцитов, которые находятся в неадекватных условиях и выделяют в окружающую среду кислый белок [3, 8]. При этом в цитоплазме нейролеммоцитов значительно увеличивается количество вакуолей, что отображает критические процессы потребления жидкости из межклеточного пространства, которые наблюдали исследователи в других тканях при сахарном диабете [3]. При этом МО имеет множественные участки расслоения ламелл миелина, что является показателем глубокого нарушения обмена фосфолипидов [5, 8]. В НМО возникает дезинтеграция большинства складок постсинаптической мембраны, расширение синаптической щели и вращение в нее отростков конечных нейролеммоцитов (рис. 2).

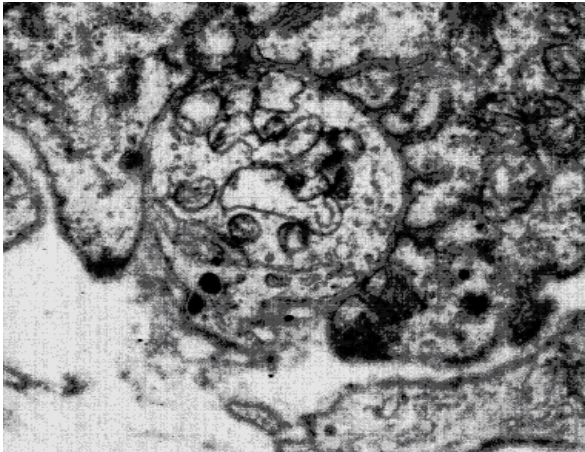


Рисунок 2 - Ультраструктура аксо-мышечного синапса через 4 недели после начала моделирования ЕССД: 1 – аксоплазма; 2 – митохондрии; 3 – цитоплазматические отростки нейролеммоцита; 4 – постсинаптические складки; 5 – саркоплазма. Ув.: x 12 000

В НМО уменьшается количество синаптических пузырьков и митохондрий, они имеют просветленный матрикс и разрушенные кристы. Если учесть, что ЕССД нарушает окислительный метаболизм [2], в котором непосредственное участие принимают митохондрии, то можно допустить, что атрофия мышц обусловлена нарушением активного транспорта нейромедиатора в результате дефицитного энергообеспечения аксо-мышечной передачи нервного импульса.

В отдельных работах [3, 7] показано, что морфологическим субстратом нарушения окислительного фосфорилирования есть фрагментация и редукция крист, которая проявляется снижением активности сукцинатдегидрогеназы.

В этот срок ЕССД сопровождается уменьшением периметра терминалей и длины синаптического контакта, соответственно, на 39,8% и 41,5% ($p < 0,05$). Известно, что число пузырьков нейромедиатора и количество митохондрий в пресинаптических терминалях

аксона зависит, с одной стороны, от синаптической активности нейрона [9], с другой – от скорости аксонного транспорта [1]. Полученные нами данные свидетельствуют о снижении интенсивности этих процессов в условиях ЕССД. В постсинаптическом отделе уменьшается (до 65,0%) количество синаптических складок, расстояние между ними возрастает (в 1,8 раза), ширина активных зон уменьшается на 41,2% ($p < 0,05$).

Продолжение срока ЕССД до 6 недель приводит не только к потере поперечной исчерченности, понижению осмиофильности саркоплазмы и её вакуолизации, а также к перемещению отдельных ядер в центральную часть МВ. Такая реакция является неспецифической и встречается при некоторых миопатиях.

В этот срок эксперимента происходит деструкция отдельных МНВ, что вызывает денервацию МВ. При этом в участке НМО уменьшается количество нейролеммоцитов, увеличивается аргирофилия их ядер (рис. 3), что наблюдали другие исследователи при нарушении их структуры разного генеза [7, 8, 10].

Средняя площадь НМО уменьшается сравнительно с контролем на 64,3%, а в сравнении с данными предыдущего срока эксперимента – на 28,9% ($p < 0,05$). Аксоплазма перегружена синаптическими пузырьками, что свидетельствует о значительном нарушении механизма экзоцитоза ацетилхолина через пресинаптическую мембрану [3, 5, 9].

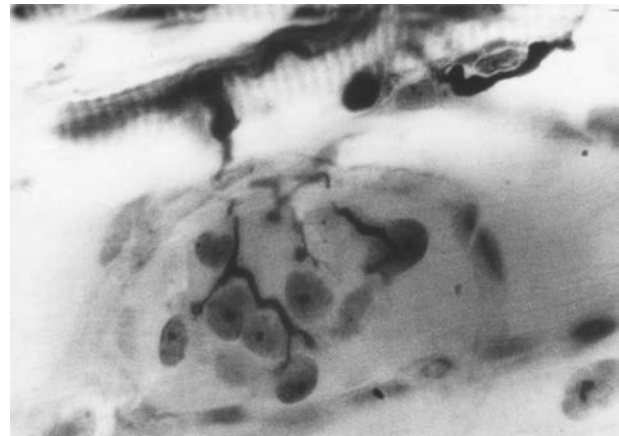


Рисунок 3 - Отек миелиновой оболочки в участке претерминалей двигательного нервного волокна через 6 недель после начала моделирования ЕССД. Импрегнация по Бильшовскому-Грос. Ок. x 7, об. x 40

Их количество на весь срез через активную зону синапса возрастает в 3,5 раза сравнительно с контрольными показателями и на 38,1% больше, чем на этапе 4 недель после моделирования ЕССД. В субсинаптической зоне определяется уменьшение количества рибо- и полирибосом, но увеличивается число пиноцитозных пузырьков. Уменьшение количества складок постсинаптической мембраны ведет к уменьшению ее площади и, следовательно к снижению количества холинорецепторов [5, 7, 9].

ЕССД на протяжении 8 недель ведет к деструкции миофиламентов, что сопровождается нарушением структуры М- и Z-линий в миофибриллах. Митохондрии уменьшаются в размерах, их матрикс имеет низкую электронно-оптическую плотность, кристы дезориентированы, укорочены, фрагментированы. В саркоплазме преимущественно МВ промежуточного типа наблюдается увеличение количества включений различной электронно-оптической плотности.

В этот срок наблюдается гомогенизация миелиновых оболочек, дегенерация терминальных разветвлений аксонов, разрушение многих нервно-мышечных окончаний (рис. 4).

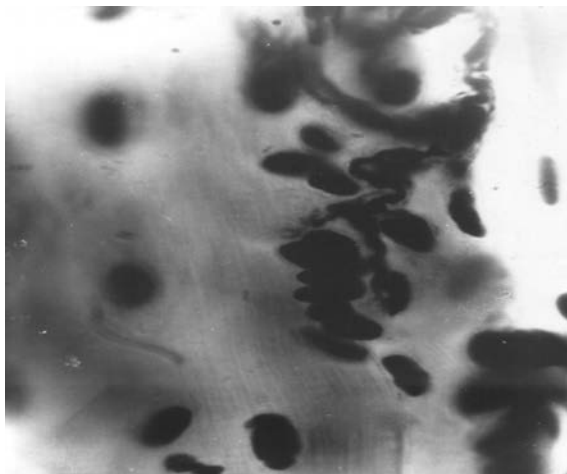


Рисунок 4 - Строение терминальных разветвлений нервно-мышечного окончания через 8 недель после начала моделирования ЕССД. Импрегнация по Бильшовскому-Грос. Ок. х 7, об. 40

Аксоплазма электронноплотная, в ней отсутствуют микротрубочки, что свидетельствует о существенном нарушении аксонного транспорта. Известно, что нейротрофическое влияние мотонейрона на МВ в значительной мере зависит от системы аксонного транспорта. На это указывает целый ряд исследований при его фармакологической блокаде [1, 6, 10]. Поэтому деструктуризацию аксоплазмы при ЕССД следует расценивать как фактор, который ослабляет нейротрофическое влияние на мембрану МВ.

В НМО терминальные разветвления разруша-

ются, в результате чего пресинаптический полюс отсутствует. В этих участках наблюдаются остатки аксоплазмы. Известно, что постоянным признаком при всех формах и степенях нейро- и миопатий есть недостаточность активной передачи импульса в зоне пресинаптической мембраны. Результаты, полученные нами, показывают, что при ЕССД к имеющимся деструктивным изменениям претерминальных волокон и аксонных терминалей присоединяется недостаточность передачи импульсов вследствие глубоких дегенеративных изменений в постсинаптических мембранах, которые усиливают влияние других неблагоприятных факторов на состоянии МВ. В связи с тотальной деструкцией ультраструктур НМО на данном этапе эксперимента морфометрический анализ провести не удалось.

На данном этапе эксперимента мы наблюдали формирование так называемых атрофических НМО, для которых характерным признаком является периферическое расположение мелких синаптических пузырьков с образованием обширных беспузырьковых зон в центральной части аксоплазмы и полное отсутствие складок в постсинаптической мембране.

Вывод. Проведенное нами исследование дает углубленное представление о динамике структурно-функциональных изменений нервно-мышечных окончаний в разные сроки после начала моделирования ЕССД.

Описанные патоморфологические изменения отражают тесное взаимодействие НМО и элементов мышечной ткани в разные сроки ЕССД. Изменения в НМО свидетельствуют о метаболических, реактивных и деструктивных процессах в мышечных волокнах при ЕССД. Результаты наших исследований показывают, что в мышечных волокнах языка вместе с измененными митохондриями и миофибриллами находятся поврежденные органеллы в аксо-мышечных синапсах с признаками как реактивных, так и деструктивных процессов. Это указывает на тесную морфо-функциональную взаимосвязь между данными структурами.

Литература

1. Волков Е.М. Влияние блокады аксонного транспорта на токи концевой пластинки мышечных волокон лягушки / Е.М. Волков, Г.И. Полетаев // Нейрофизиология. –1985. –Т.17. № 2. – С. 201-211.
2. Закирьянов А. Р. Диабетические осложнения у крыс при длительных сроках моделирования сахарного диабета 1-го типа / А. Р. Закирьянов, М. А. Плахотный, Н. А. Онищенко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. –2007. – № 4. – С. 21-25.
3. Михайлов В.Б. К механизму нарушений нейротрофической регуляции функциональных свойств саркоплазматических мембран мышечных клеток / В.Б. Михайлов // Нарушения механизмов регуляции и их коррекция. – Кишинев, 1989. – Т.2. – С.545.
4. Морфофункциональные изменения при метаболическом синдроме / О.Н. Гирина, К.М. Шатрова, Е.А. Карлова [и др.] // Внутренняя медицина – 2007. – Т.5, № 5. – С. 23-26.
5. Неврогенные механизмы развития сахарного диабета 1-го типа / С. В. Савельев, В. М. Барабанов, Ю. С. Кривова [и др.] // Архив патологии. – 2008. – № 6. – С. 9-13.
6. Разумовская Н.И. Роль нервной системы в регуляции синтеза мышечных белков / Н.И. Разумовская // Нервный контроль структурно-функциональной организации скелетных мышц. – Л.: Наука, 1980. – С. 69-83.
7. Jozca L. Histochemical profile of muscle spindles of

Literatura

1. Volkov E.M. Vliyanie blokady aksonnogo transporta na toki kontsevoj plastinki myshechnykh volokon lyagushki / E.M. Volkov, G.I. Poletaev // Neirofiziologiya. –1985. –Т.17. № 2. – С. 201-211.
2. Zakir'yanov A. R. Diabeticheskie oslozhneniya u kryis pri dlitel'nykh srokakh modelirovaniya sakharnogo diabeta 1-go tipa / A. R. Zakir'yanov, M. A. Plakhotnij, N. A. Onishhenko // Patologicheskaya fiziologiya i ehksperimental'naya terapiya. –2007. – № 4. – С. 21-25.
3. Mikhajlov V.B. K mekhanizmu narushenij neyrotroficheskoy reguljatsii funktsional'nykh svojstv sarkoplazmaticheskikh membran myshechnykh kletok / V.B. Mikhajlov // Narusheniya mekhanizmov reguljatsii i ikh korrektsiya. – Kishinev, 1989. – Т.2. – С.545.
4. Morfofunktsional'nye izmeneniya pri metabolicheskom sindrome / O.N. Girina, K.M. SHatrova, E.A. Karlova [i dr.] // Vnutrennyaya meditsina – 2007. – Т.5, № 5. – С. 23-26.
5. Nevrogennye mekhanizmy razvitiya sakharnogo diabeta 1-go tipa / S. V. Savel'ev, V. M. Barabanov, YU. S. Krivova [i dr.] // Arkhiv patologii. – 2008. – № 6. – С. 9-13.
6. Razumovskaya N.I. Rol' nervnoj sistemy v reguljatsii sinteza myshechnykh belkov / N.I. Razumovskaya // Nervnyj kontrol' strukturmo-funktsional'noj organizatsii skeletnykh myshts. – L.: Nauka, 1980. – С. 69-83.
7. Jozca L. Histochemical profile of muscle spindles of diabetic rats sural muscles / L. Jozca, P. Kannus, M. Kvit// Acta

diabetic rats sural muscles / L. Jozca, P. Kannus, M. Kvit // Acta Histochem. – 1990. – Vol.19, №1. – P.17-24.

8. Lees M.B. Recent studies on the chemistry of the myelin proteolipid in the diabetic rat / M.B. Lees // Third Int. Symp. on myelination and demyelination. –Varna: Bulgarian Acad. of Sci., 1986. – P.9-20.

9. Plasticity of the different neuropeptide-containing nerve fibres in the tongue of the diabetic rat / Bayarchimeg Batbayar, Tivadar Zelles, Ágota Vér [et al.] // J. Peripheral Nervous System. – 2004. – V. 9, № 4. – P. 215-223.

10. Takekura H. Histochemical and biochemical studies on the exercise on the skeletal muscle fibers in diabetic rats / H. Takekura, H. Tanaka, M. Ono // Jpn. J. Phys. Fitness Sports. Med. – 1985. – Vol. 34, № 5. – P. 276-283.

Histochem. – 1990. – Vol.19, №1. – P.17-24.

8. Lees M.B. Recent studies on the chemistry of the myelin proteolipid in the diabetic rat / M.B. Lees // Third Int. Symp. on myelination and demyelination. –Varna: Bulgarian Acad. of Sci., 1986. – P.9-20.

9. Plasticity of the different neuropeptide-containing nerve fibres in the tongue of the diabetic rat / Bayarchimeg Batbayar, Tivadar Zelles, Ágota Vér [et al.] // J. Peripheral Nervous System. – 2004. – V. 9, № 4. – P. 215-223.

10. Takekura H. Histochemical and biochemical studies on the exercise on the skeletal muscle fibers in diabetic rats / H. Takekura, H. Tanaka, M. Ono // Jpn. J. Phys. Fitness Sports. Med. – 1985. – Vol. 34, № 5. – P. 276-283.

STATE OF PERIPHERAL NEURO-MUSCULAR APPARATUS OF TONGUE IN DIABETES MELLITUS OF TYPE

Levitskiy V.A., Atamanchuk O.V.

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

The purpose of the research was to study the dynamics of morphological changes of the tongue neuromuscular junctions under experimental diabetes mellitus of the I type.

In the experiment on 45 male rats employing histo-ultrastructural methods we established that changes in neuromuscular junctions depend on the duration of diabetes mellitus and have reactive-dystrophy character. A different degree of their expression is related to the composition of tongue muscles. It was shown that muscle fibers of intermediate type are most sensible to hyperglycaemia. The results of our research show that during diabetes mellitus the changes in muscle fibers closely correlate with damaged cellular elements in neuromuscular synapse.

Key words: diabetes mellitus, neuromuscular junction, tongue.

Адрес для корреспонденции: e-mail: serg_popel@mail.ru

Поступила 17.01.2014