

ХАРАКТЕРИСТИКА МІМІЧНИХ М'ЯЗІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ НЕЙРОПАТІЇ ЛИЦЕВОГО НЕРВА

Івано-Франківський національний медичний університет

(м. Івано-Франківськ)

Дана робота є фрагментом науково-дослідницької роботи Івано-Франківського національного медичного університету «Морфо-функціональний стан мікроциркуляторного русла і клітинних елементів органів і тканин після дії загальної глибокої гіпотермії», № держ. реєстрації 0110U0075503.

Вступ. Експериментальні дослідження, проведені з використанням гістологічних, гістохімічних та електронно-мікроскопічних методів при різних видах порушення моторики організму (імобілізація кінцівок, нейропатії, міастенія, міодистрофії тощо) показують, що обмеження функціональної активності викликає морфо-функціональні зміни майже всіх структурних компонентів м'язів [3,5,7,8,12]. Відомості про стан мимічних м'язів в умовах нейропатії лицевого нерва [6,13] становлять особливий інтерес для нейро-стоматологічної практики у зв'язку з первинним паралічем, вираженими ознаками контрактури і подальшої міодистрофії, які розвиваються у вкрай стислі терміни і важко піддаються корекції, незважаючи на значну кількість різноманітних видів терапії [13].

Метою даної роботи стало вивчення мимічних м'язів при експериментальній нейропатії лицевого нерва.

Об'єкт і методи дослідження. Нейропатію лицевого нерва моделювали за методикою С. Л. Попеля [2]. Вивчено 20 біоптатів мимічних м'язів у кролів породи шиншила, які брали з т. orbicularis oris через 3, 7, 15 і 30 діб від початку моделювання експериментальної нейропатії. Контролем служив матеріал з протилежного боку, без патологічних змін м'язової тканини. У всіх випадках шматочки для дослідження брали в одних і тих же ділянках м'язів. На свіжозаморожених зрізах виявляли активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) за Нахласом. Оцінку активності ферменту проводили за допомогою фотометричної установки МФМУ-1 в монохроматичному світлі при довжині хвилі 580 нм зондом площею 176,7 мкм². У кожному м'язі за результатами вимірювання 100 волокон, випадково вибраних і рівномірно розподілених по препараті, визначали оптичну щільність

і площу поперечних зрізів. Частину матеріалу заливали в парафін, зрізи фарбували гематоксиліном та еозинном і за Ван Гізон. Для електронно-мікроскопічного дослідження матеріал фіксували в глутаровому альдегіді з наступною обробкою OsO₄ і заливали в епон-аралдит. Зрізи вивчали на електронному мікроскопі ПЕМ-125К. Стереоморфометричний аналіз ультраструктур проводили по E. R. Weibel, GS Kisiler і W. Scherle [4]. У 50 м'язових волокнах на кожному зрізі визначали відносний об'єм мітохондрій, міофібрил, саркоплазматичної сітки і прошарків саркоплазми, а в ендотеліоцитах кровоносних капілярів – вміст і розміри піноцитозних пухирців. Будували гістограми, обчислювали центральні статистичні моменти. За допомогою критерію Колмогорова-Смирнова визначали істотність відмінностей між емпіричними розподілами окремих ознак в порівнянні з контролем. Стандартні помилки середніх знаходили з урахуванням мінливості ознаки в межах організму [4].

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Результати досліджень та їх обговорення. Через 3 доби після початку експерименту в мимічних м'язах між окремими м'язовими пучками та окремими волокнами збільшується відстань, що свідчить про набряклість тканини. Помітно розширюються цистерни саркоплазматичної сітки. У міофібрилах порушується правильне розташування Z-ліній, окремі кристи в мітохондріях вкорочені і фрагментовані. В ендотеліоцитах кровоносних капілярів збільшується вміст піноцитозних пухирців. Дослідження розподілу СДГ у м'язовій тканині показало, що її активність знижується на 5,2% (p < 0,05).

Через 7 діб після початку експерименту МВ мають ознаки деструкції. Навколо окремих тонкостінних кровоносних судин зустрічається незначна круглоклітинна інфільтрація. Зміни мітохондрій і міофібрил відповідають описаним раніше [1,10,11], але

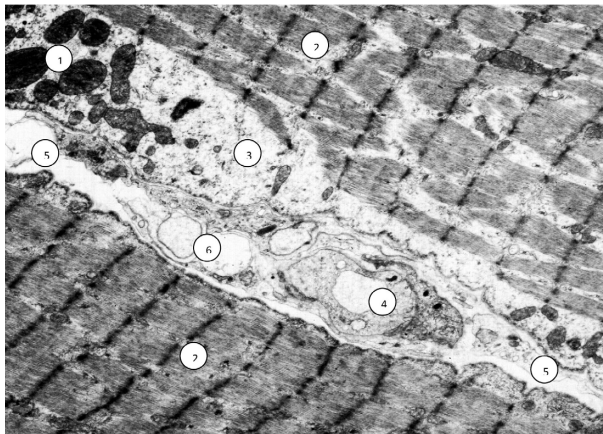


Рис. 1. Ультраструктурна будова м'язового волокна кроля через 15 днів від початку моделювання експериментальної нейропатії лицевого нерва: 1 – мітохондрії, 2 – саркомер, 3 – саркоплазма, 4 – плазматичний капіляр, 5 – міжклітинний простір, 6 – термінальне нервово волокно. 36.: x 8 000.

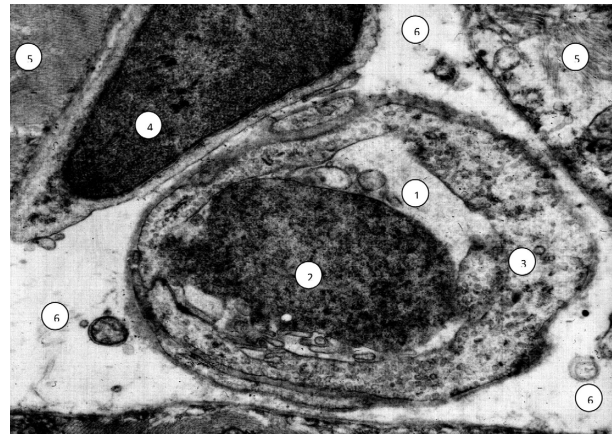


Рис. 2. Ультраструктурна організація гемокапіляра мимічних м'язів кроля через 15 днів від початку моделювання експериментальної нейропатії лицевого нерва: 1 – просвіт гемокапіляра, 2 – еритроцит, 3 – ендотеліоцит, 4 – ядро, 5 – міофіламенти, 6 – міжклітинний простір. 36.: x 12 000.

деякі міофібрили можуть поділятися на пучки міофіламентів. В ендотеліальних клітинах зменшується вміст піноцитозних пухирців. Збільшується простір між сарколемою м'язового волокна та ендотеліоцитами кровоносних капілярів, що свідчить про інтерстиціальний набряк. Відомо, що збільшення відстані між джерелом кровопостачання і кінцевим споживачем істотно збільшує напруженість процесів метаболізму [7,15]. Це може служити морфологічним субстратом для подальшого розвитку деструктивних явищ у м'язових волокнах. Під час першого тижня експерименту середні значення площі поперечного перерізу м'язових волокон на 12,1 % перевищують дані контрольних тварин, що, мабуть, пов'язано з наявним набряком м'язової тканини. У цей термін активність СДГ знижується на 14,6 % ($p < 0,05$).

Через 15 днів від початку експерименту значно (на 30,2 %) збільшується площа поперечного перерізу м'язових волокон. Поряд з незмінними спостерігаються окремі МВ, які містять ділянки глобулярного розпаду і цитолізу. У багатьох МВ розширені цистерни саркоплазматичної сітки. Часто між міофібрилами розташовуються широкі ділянки саркоплазми, що не містять гранул глікогену і рибосом (**рис. 1**). У ряді мітохондрій поряд із зменшенням числа крист руйнується зовнішня мембрана, що служить джерелом утворення мієліноподібних тілець. У міофібрилах порушений хід Z-ліній. Активність СДГ в м'язовій тканині знижується на 20,2 % від початкових значень ($p < 0,05$).

Через 30 днів збільшується число МВ з ознаками атрофії. Спостерігаються ланцюжки м'язових ядер, що займають центральне положення. В окремих ділянках розташовуються невеликі дифузні периваскулярні інфільтрати. Порушується цілісність окремих міофібрил, частіше по периферії міона. У таких м'язових волокнах мітохондрії зазвичай мають просвітлений матрикс і зменшене число

крист. Канали саркоплазматичної сітки залишаються розширеними.

Морфометричний аналіз свідчить, що у цей термін значно зменшується середня площа поперечного перерізу МВ за рахунок зниження відносної кількості волокон великого діаметру. Відмінності гістограм розподілу МВ один від одного за площею перерізу м'язових волокон носять випадковий характер.

Навіть через 4 тижні після початку експерименту розподіл активності СДГ в м'язових волокнах істотно відрізняється від такого в контролі: її активність, порівняно з контролем, зменшується в 1,2 рази ($p < 0,01$), при цьому значно збільшується відносний вміст МВ з низькою оптичною щільністю.

На підставі врахування динаміки коефіцієнтів асиметрії та ексцесу можна детально судити про процеси [4]. Етапний характер змін активності СДГ м'язової тканини в умовах різкого зменшення функціональної активності наочно виявляється при дослідженні динаміки центральних статистичних моментів цього показника.

В ендотеліоцитах кровоносних капілярів змінюється вміст піноцитозних пухирців, який в усі терміни дослідження відрізняється від контролю (**рис. 2**).

Звертає на себе увагу його зниження на початку експерименту і різке збільшення через 7 днів і пізніше. Одночасно, починаючи з кінця першого тижня, збільшується розмір піноцитозних пухирців. Через 30 днів їх питомий об'єм становить 73,2 % від контрольного значення. Все це відображає тісну взаємодію кровоносної системи та елементів м'язової тканини на різних етапах постхолодової нейропатії.

Починаючи з ранніх термінів спостереження (**табл.**), значно збільшується відносний об'єм саркоплазматичної сітки (через 30 днів в 1,76 рази у порівнянні з контролем).

Таблиця

Волуметричні фракції (Vv, %) органел в м'язових волокнах в різні терміни після початку моделювання нейропатії

Органели	Контроль	Терміни нейропатії, доби			
		3	7	15	30
Мітохондрії	6,14 ± 0,21	6,65 ± 0,24 (>0,05)	6,01 ± 0,23 (>0,05)	5,46 ± 0,24 (<0,05)	4,82 ± 0,22 (<0,01)
Міофібрили	83,6 ± 0,32	82,8 ± 0,44 (>0,05)	82,7 ± 0,4 (>0,05)	82,6 ± 0,42 (>0,05)	81,7 ± 0,43 (<0,01)
Сарко-плазматична сітка	2,20 ± 0,11	2,64 ± 0,12 (<0,05)	3,11 ± 0,15 (<0,01)	3,43 ± 0,14 (<0,01)	3,87 ± 0,16 (<0,01)
Вільні ділянки саркоплазми	8,06 ± 0,16	7,93 ± 0,17 (>0,05)	8,22 ± 0,17 (>0,05)	8,53 ± 0,18 (>0,05)	9,64 ± 0,23 (<0,01)

Примітка: у дужках Р у порівнянні з контролем.

Відносний об'єм міофібрил змінюється лише через 30 діб. Зміни вмісту мітохондрій в МВ підтверджують наявність характерних етапів у процесі структурної перебудови м'язової тканини в умовах експерименту: їх кількість знижується через 3 доби, потім повертається майже до вихідного рівня (але із значними деструктивними змінами) і з кінця 2-го тижня істотно зменшується (табл.). Зміни в МВ свідчать про реактивні і деструктивні процеси при експериментальній нейропатії різної тривалості. Неодноразова ступінь їх вираженості пов'язана з існуванням у складі мімічних м'язів різних волокон, причому переважають МВ проміжного типу [3,6].

Є вказівки, що найбільш чутливі до різкого обмеження функціонального навантаження волокна проміжного типу, де дегенеративні зміни стосуються всіх структур [3]. Результати наших досліджень показують, що в МВ поряд із зміненими мітохондріями і міофібрилами знаходяться аналогічні органели без видимих пошкоджень, а поодинокі м'язові волокна з ознаками реактивно-деструктивних перебудов оточені МВ звичайної будови. Це відповідає закону переміжної активності функціонуючих структур і закону дискретності біологічних процесів, за яким зміна структур відбувається не цілком, а окремими одиницями, що має істотну роль в протіканні адаптації та дистрофії [14]. Зрушення на субмікроскопічному рівні

зрушенням через різке обмеження рухливості мімічних м'язів при НЛН.

Л. Гуніна і співав. [1], Т. Н. Мосендз [5], D. P. Marin [12] і Z. Radak et al. [14] вважають, що такі зміни характерні для стрес-реакції і тривають 1-3 доби.

На другому етапі (кінець першого тижня) відбувається відносна стабілізація процесу і частковий перехід показників до вихідного рівня.

З кінця 2-го тижня експерименту починається третій етап, який відповідає адаптаційним перебудовам. Порівняння результатів даного дослідження з фактами, отриманими іншими авторами [6,13], підтверджує правильність висновку, щодо окремих етапів у процесі зміни м'язової тканини після різкого обмеження рухової активності внаслідок її денервації.

Висновок. У результаті комплексного впливу обмеження функції і метаболізму в м'язових волокнах відбувається реактивно-адаптаційна перебудова мімічних м'язів, яка на першому етапі відповідає стрес-реакції, на другому етапі – стабілізації процесу і на третьому етапі – адаптаційним перебудовам.

Перспективи подальших досліджень лежать у площині вивчення закономірностей структурної перебудови різних компонентів м'язових тканин у віддалені терміни експериментальної нейропатії.

Література

1. Ангиогенез и окислительный стресс при физических нагрузках с различным механизмом энергообеспечения / Л. Гунина, И. Лисняк, Е. Носач, Ю. Винничук // Наука в олимпийском спорте. – 2013. – №2. – С. 43–47.
2. Авторське свідоцтво на раціоналізаторську пропозицію Спосіб моделювання нейропатії лицевого нерва у лабораторних тварин: С. Л. Попель. – №32/2049; подано 12. 06. 91; визн. рац. 05. 11. 1991.
3. Мицкан Б. М. Вплив обмеження рухової активності на гісто-ультраструктуру скелетних м'язів // Б. М. Мицкан, С. Л. Попель // Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень: Мат-ли наук. -практ. конф. – Тернопіль, 2008. – С. 83–84.
4. Морфологический и математический анализ нервных волокон и микрососудов скелетных мышц в эксперименте / П. А. Гелашвили, О. А. Гелашвили, С. Н. Юхимец [и др.] // Морфология. – 2008. – Т. 133, №2. – С. 31–34.
5. Мосендз Т. М. Композиція та гісто-ультраструктурна будова скелетних м'язів в нормі та експерименті / Т. М. Мосендз // Вісник Дніпропетровського університету. – 2012. – Т. 20, №2. – С. 70–77.
6. Попель С. Л. Морфо-функциональные особенности дегенерации периферических нервов при холодовой травме / С. Л. Попель, В. А. Левицкий // Гистология и эмбриогенез периферической нервной системы: Мат-лы науч. конф. посвященной 100-летию М. И. Зазыбина. – Киев, 2004. – С. 55–56.

7. Филиппов М. М. Физиологические механизмы развития и компенсации состояния гипоксии в процессе адаптации к мышечной деятельности / М. М. Филиппов, Д. Н. Давиденко. – СПб. – К.: БПА. 2010. – 260 с.
8. Chinkin A. S. Self-guldition mechanisms of myocardial contractile function in hypokinesia and muscle workout / A. S. Chinkin // I. Uspekhi fisiotogtchelati nauk. – 2012. – Vol. 43, П1. – P. 72- 82.
9. Doring S. A common haplotype and the Pro182Ser polymorphism of the hypoxia inducible factor-alpha (HIF1a) gene / S. A. Doring, A. Onur, M. R. Fischer // J. Appl. Physiol. – 2010. – Vol. 108, № 3. – P. 1491–1500.
10. Gunina L. M. Changes of blood indexes and prooxidant antioxidant balance in erythrocytes membranes during intensive physical exertion / L. M. Gunina, S. A. Oliynyk, S. V. Ivanov // Medical Chemistry. – 2007. – Vol. 9, № 1 –P. 91–99.
11. Gunina L. Vascular endothelial growth (actor in athletes of different sport disciplines: relationship to oxidative stress / L. Gunina, I. Lisniak // Science in Olympic sport. – 2008. – № 1. – P. 46–50.
12. Marin D. P. Cytokines and oxidative stress status following a handball game in elite male players / D. P. Marin, R. de C dos Santos, A. P. Bolin // Oxid. Med. Cell Longev. – 2011. – № 9. – P. 234–242.
13. Podvinec M. Neuropathological findings in Bell's palsy. Disorders of the facial nerve / M. Podvinec, J. Ulrich, C. R. Pflatz. – New-York : Raven Press, 2000. – 320 p.
14. Radak Z. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and RO2-dependent adaptive signalling / Z. Radak, Z. Zhao, E. Koltai // Antioxid. Redox Signal. – 2013. – Vol. 18, № 10. – P. 1208–1246.
15. West X. Z. Oxidative stress induces angiogenesis by activating TLR2 with novel endogenous liganda / X. Z. West, N. L. Matoin, A. A. Merkulova // Nature. – 2010. – Vol. 46, № 7318. – P. 972–976.

УДК 616. 85±616. 833. 17±616-092. 9±616. 742

ХАРАКТЕРИСТИКА МІМІЧНИХ М'ЯЗІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ НЕЙРОПАТІЇ ЛИЦЕВОГО НЕРВА

Шовкова Н. І.

Резюме. Досліджували мімічні м'язи 20 кроликів породи шиншила через 3, 7, 15 і 30 діб від початку моделювання нейропатії лицевого нерва. Структурну перебудову м'язової тканини в цих умовах слід розглядати як результат поєданого впливу обмеженої функції і порушення взаємин між кровоносними капілярами та м'язовими волокнами. В динаміці змін стану м'язової тканини існує декілька етапів. Перший етап (перші 3 доби) відповідає реактивним змінам, які характерні для стрес-реакції. На другому етапі (кінець першого тижня) відбувається відносна стабілізація процесу і частковий перехід показників до початкового рівня. Третій етап (15-30 діб) відповідає адаптаційній перебудові.

Ключові слова: м'язові волокна, гемокапіляри, ферменти, нейропатія, кроль.

УДК 616. 85±616. 833. 17±616-092. 9±616. 742

ХАРАКТЕРИСТИКА МИМИЧЕСКИХ МЫШЦ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕЙРОПАТИИ ЛИЦЕВОГО НЕРВА

Шовкова Н. И.

Резюме. Исследовали мимические мышцы 20 кроликов породы шиншилла через 3, 7, 15 и 30 сут после моделирования нейропатии лицевого нерва. Структурную перестройку мышечной ткани в этих условиях следует рассматривать как результат совместного влияния ограниченной функции и нарушения взаимоотношений между кровеносными капиллярами и мышечными волокнами. В динамике изменений состояния мышечной ткани существует несколько этапов. Первый этап (первые 3 сут) соответствует реактивным сдвигам, которые характерны для стресс-реакции. На втором этапе (конец первой недели) происходит относительная стабилизация процесса и частичный переход показателей к исходному уровню. Третий этап (15-30 сут) соответствует адаптационным перестройкам.

Ключевые слова: мышечные волокна, гемокапилляры, ферменты, нейропатия, кролик.

UDC 616. 85±616. 833. 17±616-092. 9±616. 742

Characteristics of the Mimic Muscles in Conditions of Experimental Neuropathy of Facial Nerve Shovkova N. I.

Abstract. Facial muscles investigation at experimental neuropathy of the facial nerve was the aim of work. The facial muscles of 20 chinchilla rabbits were examined at 3, 7, 15 and 30 days after the simulation of the facial nerve neuropathy for this purpose. The material of opposite side without pathological changes of muscle tissue served as control. The slices were taken for investigation in the same muscle section, in all cases. The activity of succinate dehydrogenase was detected on freshly frozen sections. The optical density and the area of the transverse sections were determined by measuring of 100 fibers in every muscle, randomly selected and uniformly distributed across the slice. Part of the material placed in paraffin, slices stained with hematoxylin and eosin, and Van Gison. The material was prepared by the usual method for electron microscopic examination. Ultrathin slices were examined under the electron microscope ПЕМ-125K. It was determined relative volume of mitochondria, myofibrils, sarcoplasmic reticulum and sarcoplasmic layers in 50 muscle fibers on each section. It was determined the content and size of pinocytosis vesicles in the endothelial cells of capillaries also.

Restructuring of muscle tissue under peripheral neuropathy should be considered as a result of the combined influence of the limited functions and disorders of the relationship between blood capillaries and muscle fibers. There are several stages in the dynamics of muscle's tissue condition.

The first stage (first 3 days) corresponds to reactive shifts, which are characterized by the stress reaction and confirmed by quantitative and qualitative changes: increasing of the distance between the muscle fibers and separate fibers, expanding cisterns of sarcoplasmic reticulum, violated of Z-lines right location in myofibrils, separate cristae in mitochondria shortened and fragmented. Increases content of pinocytosis vesicles in endothelial cells of capillaries simultaneously. Study of succinate dehydrogenase distribution in muscle tissue showed that its activity was reduced by 5,2 % ($p < 0,05$).

In the second stage (after 7 days from the start of neuropathy simulation) increases the space between the sarcolemma of muscle fibers and endothelial cells of capillaries, which indicates the development of interstitial edema and could serve as a substrate for subsequent morphological development of destructive phenomena in the muscle fibers. During this period, succinate dehydrogenase activity decreased by 14,6 % ($p < 0,05$).

Chains of muscle nuclei which occupying the central position in the third phase (15-30 days) were observed. There are little diffuse perivascular infiltrates in some areas. There are violated of the separate myofibrils integrity, often on the periphery of the myon. There are enlightened matrix and a reduced number of cristae in mitochondria of muscle fibers also. Channels of sarcoplasmic reticulum are dilated, which corresponds to the adaptation reorganizations.

We have established by morphometric analysis that diameter of all microvessels narrows within 3 days, however over the period from 3 to 7 days the aperture of arteriols and precapillars remains contracted, although the diameter of the veins and venules expands. After 7 days all micro-circulation chains broad. There are three types of ultrastructural changes into hemo-capillars: 1) hemocapillars with polymorph endotelocyte cells (dark and light); 2) capillars with a strong swelling of the endothelial cells; 3) micro-vessels with cytoplasmatic processes that desquamate their space. Inside the light endotelocutes occurs a merger of the small micropinocyte bubbles into big vacuoles and multi-vesicular bodies. The modifications in both dark and light mitochonders are polymorphic by origin. In some of mitochonders appear myelin figures on one of the poles surrounded by enlightened matrix. The consolidated cytoplasm is typical for endothelial cells, concentration of organelles in bilateral zones and different electronic density of the mitochondria matrix. In the postcapillar venules endothelium becomes necrotic and peels as well as the integrity of basal membrane.

In conclusion we should admit that destructive changes occur in mimic muscles in experimental neuropathy in all elements of microcirculation.

Key words: muscle fibers, hemocapillars, enzymes, neuropathy, rabbits.

Рецензент – проф. Костиленко Ю. П.

Стаття надійшла 27. 01. 2014 р.