

УДК 591.339:576.364

А.В.Карманова (6 курс, каф. ФХБК), В.М.Михайлов, д.б.н., проф. (ИнЦ РАН)

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ МЫШЕЙ MDX

Миодистрофия Дюшенна – это заболевание, при котором в мышечных волокнах нарушен синтез дистрофина из-за мутации в кодирующем его структурном гене.

Нарушение структуры дистрофина приводит к развитию в мышечных волокнах состояния окислительного стресса, которое и является причиной их гибели. В настоящее время нами проводятся исследования возможности применения стволовых клеток костного мозга для лечения этого заболевания. В качестве экспериментальной модели миодистрофии Дюшенна используются мышцы линии mdx. Ранее нами установлено, что стволовые клетки костного мозга нормальных мышцей C57Bl участвуют в регенерации мышечных волокон мышцей mdx. При этом наблюдается улучшение морфологических свойств мышечных волокон [1]. Для дальнейшей оценки эффективности клеточной терапии необходимо исследовать морфологию не только самих мышечных волокон, но и определить степень изменений нервно-мышечных синапсов, так как нормализация структуры нервно-мышечных синапсов является необходимым условием достижения длительного терапевтического эффекта при клеточной терапии миодистрофии. Известно, что в мышцах мышцей mdx нарушена структура нервно-мышечных соединений. Целью представленной работы было исследование особенностей структуры нервно-мышечных соединений скелетных мышц мышцей mdx по сравнению с мышцами нормальных мышцей C57Bl/6. В ходе работы решались следующие задачи:

1) сравнение размеров нервно-мышечных соединений мышцей mdx и C57Bl;

2) сравнение относительной флуоресценции родамина- α -бунгаротоксина в области нервно-мышечных соединений у мышцей линий mdx и C57Bl.

В ходе работы были исследованы мышцы мышцей линий mdx и C57bl (нормальные мышцы или мышцы дикого типа). Изучались приготовленные на криостате поперечные срезы четырехглавой мышцы бедра толщиной 10 мкм. Препараты мышц окрашивались α -бунгаротоксином-родамином, который специфически связывается с ацетилхолиновыми рецепторами на субсинаптической мембране мышечного волокна, что позволяет определить область нервно-мышечных соединений. Затем препараты исследовались на конфокальном микроскопе Zeiss LSM 5 Pascal, делались снимки окрашенных нервно-мышечных синапсов. Полученные снимки анализировались с использованием программ LSM 5 Image Browser и ImageJ: определялась длина нервно-мышечных соединений, их площадь и относительная флуоресценция родамина в области синапса.

Таким образом, в ходе работы были получены следующие результаты, представленные в табл. 1.

Таблица 1.

	Площадь нервно-мышечного соединения, мкм^2 , $X \pm s_x$	Длина нервно-мышечного соединения, мкм $X \pm s_x$	Относительная флуоресценция в области нервно-мышечного соединения, $X \pm s_x$
Mdx	207 \pm 14	15,0 \pm 0,5	2,2 \pm 0,1
C57Bl	296 \pm 13	22,8 \pm 0,6	4,6 \pm 0,2

По результатам работы можно сделать вывод, что у мышей линии mdx по сравнению с мышами линии C57Bl достоверно снижаются размеры нервно-мышечных синапсов. Также происходит снижение в нервно-мышечных соединениях количества ацетилхолиновых рецепторов (количество рецепторов коррелирует с относительной флуоресценцией в области нервно-мышечного соединения), это может быть связано с тем, что дистрофин участвует в образовании больших кластеров ацетилхолиновых рецепторов, а соответственно и зрелых нервно-мышечных соединений. Полученные данные можно использовать как критерии оценки степени восстановления мышечных волокон мышей mdx после клеточной терапии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. В.М.Михайлов, Е.В.Евтифеева, А.В.Карманова, В.Б.Сериков, А.Е.Переверзев, В.В.Зенин. Онтогенез. 2005 г. т.36, №5 с. 384-385.