

МИОГИСТОГЕНЕЗ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПОРОСЯТ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

**В. В. Малашко¹, И. В. Кулеш¹, А. М. Казыро¹, В. Л. Ковалевич¹,
О. А. Сенько¹, Д. В. Малашко¹, Т. М. Скудная¹, Н. К. Шавель¹,
Д. В. Малашко²**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,

г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by);

² – УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»

г. Горки, Республики Беларусь (Республика Беларусь, 213410,

Могилевская область, г. Горки, ул. Мичурина, 10; e-mail: fms@baa.by)

Ключевые слова: поросята, гипотрофия, мышцы, ультраструктура, миофибриллы, саркомер, онтогенез, морфометрия.

Аннотация. Ультраструктурный и стереологический анализ показали, что постнатальный миогенез характеризуется неравномерностью, что, возможно, зависит от функционального назначения каждой мышцы. В то же время у поросят-гипотрофиков отмечается замедление миогенеза, особенно среди таких мышц, как длиннейший мускул спины, средний ягодичный мускул, четырехглавый и трехглавый мускул плеча.

MIOHISTOGENESIS OF SKELETAL MUSCLE OF PIGLETS IN POSTNATAL ONTOGENESIS

**V. V. Malashko¹, I. V. Kulech¹, A. M. Kazyro¹, V. L. Kovalevich¹,
O. A. Senko¹, D. V. Malashko¹, T. M. Skudnaja¹, N. K. Shavel¹,
D. V. Malashko²**

¹ – EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230028, Grodno,

28 Tereshkova str., e-mail: ggau@ggau.by);

² – EI «Belarusian agricultural academy»

Gorki, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 213410, Mogilev region,

Gorki, 10 Michurina str.)

Key words: piglets, hypotrophy, muscles, ultrastructure, myofibrilla, sarcomere, ontogenesis, morphometry.

Summary. Ultrastructural and stereological analysis showed that postnatal myogenesis is characterized as irregular according to function of muscle. At the same time it is observed that myogenesis of piglets with hypotrophy decreases especially among such muscles as longissimus muscle of back, middle gluteal muscle, quadricephalous muscle of the arm and triceps of the arm.

(Поступила в редакцию 01.06.2023 г.)

Введение. Общеизвестно, что одно из общих проявлений адаптации – изменение двигательной активности, в основе которой лежит мышечное сокращение. В научной литературе [1, 14, 15] широко распространено мнение о том, что все мышцы млекопитающих являются смешанными, т. е. представляют собой совокупность мышечных волокон с разными физиологическими и гистохимическими характеристиками.

В последнее время большое внимание уделяется количественной оценке субмикроскопического строения мышечных волокон как одному из наиболее важных критериев, характеризующих их функциональный профиль, и изучению количественного соотношения различных мышечных волокон в скелетных мышцах [2, 8]. Одним из подходов в решении этой проблемы может стать изучение структурно-функциональной и в т. ч. ультраструктурной характеристики скелетных мышц разных функциональных групп, приспособленных к решению разных двигательных задач. Исследование особенностей структурно-функциональной организации одних и тех же мышц у разных животных способствует более глубокому пониманию процессов приспособления мышечной системы к различным дестабилизирующим факторам (гиперкинезия, гипокинезия). Имеются данные, указывающие на прямое участие скелетной мускулатуры в формировании устойчивости организма к другим экстремальным и субэкстремальным факторам [7, 11].

Скелетные (соматические, поперечнополосатые) мышцы состоят из мышечных волокон с различными морфологическими и функциональными характеристиками: размерами, цветом, особенностями ультраструктурной организации, ферментативным профилем, метаболизмом, скоростью сокращения [9].

С помощью гистохимических исследований ферментативной активности мышечных волокон было выявлено три основных типа. В обзоре R. L. Close [13] проанализированы и сопоставлены результаты нескольких гистохимических исследований. Согласно этим данным, в скелетных мышцах позвоночных животных выделяют белые, красные и промежуточные волокна, соответствующие типам А, В, С. Белые волокна (А, или I тип) имеют высокую гликолитическую активность, низкую окислительную и высокую активность миофибриллярной АТФазы; красные волокна (В, или II тип) – среднюю гликолитическую активность, высокую активность окислительных ферментов и миофибриллярной АТФазы; для промежуточных волокон (С, или III тип) характерна низкая гликолитическая активность, средняя окислительная и низкая активность миофибриллярной АТФазы.

При электронно-микроскопическом исследовании красные и белые волокна идентифицируются достаточно четко. Важнейшей

отличительной чертой красных волокон является значительное количество митохондрий. По данным морфометрии, митохондрии в центральных отделах волокон занимают $11,36 \pm 0,60$ % объема, в периферических отделах волокон на долю этих органелл приходится почти пятая часть объема – $19,68 \pm 1,38$ % [12]. Митохондрии располагаются между миофибриллами попарно на уровне I-дисков саркомеров или цепочками, а также скоплениями в разных участках волокон, наиболее крупные скопления митохондрий характерны для периферических отделов волокон, где плотно упакованные в несколько рядов митохондрии могут подстилать сарколемму на значительном ее протяжении. Большие скопления митохондрий встречаются также в околоядерных отделах волокон, вблизи «полюсов» ядер. Размер митохондрий варьирует в широких пределах. Одиночные митохондрии, как правило, более мелкие, в скоплениях они крупнее. Кристы в митохондриях плотно упакованы, не всегда четко различимы на фоне электронно-плотного матрикса.

Большинство исследователей процессов миоглиогенеза подчеркивают, что образование сократительных систем – одно из проявлений клеточной дифференцировки [16]. К тому же этот процесс весьма сложен. Мышечная ткань образуется путем слияния одноядерных клеток – миобластов. Первичные миобласты, или, как их еще называют, промиобластами, происходят из клеток мезодермы и мезенхимы. Размер их $0,5$ мкм, они обладают способностью к миграции. У плодов свиней миобласты становятся веретеновидными на 30 день развития, пучки скелетной мускулатуры формируются на 35 день эмбрионального развития.

Согласно данным З. А. Подлубной [10], развитие миофибрилярного аппарата происходит в три стадии: 1) сборка белков в миофиламенты; 2) сборка структурных элементов в миофибриллы; 3) организация миофибрилл в волокне. Миотубы, образующиеся из миобластов, представляют собой вытянутые многоядерные образования с центрально расположенными ядрами. В них активно происходит синтез миозина и актина, которые в результате полимеризации образуют миофиламенты, впоследствии собирающиеся в миофибриллы.

До настоящего времени мы не имеем четких представлений об особенностях структурно-функциональной организации скелетной мускулатуры разной функциональной специализации как у поросят-нормотрофиков, так и у поросят-гипотрофиков. Известно, что мышца является органом, хорошо приспособленным как для длительного поддержания небольших напряжений, так и для кратковременных быстрых движений.

На рост, развитие и естественную резистентность организма поросят на протяжении постнатального периода значительное влияние оказывает степень сформированности различных функциональных систем.

Жизнеспособность поросят разного пола в зависимости от живой массы неодинакова. При этом критическая живая масса для свинок равна 1,1 кг, для хрячков – 1,4 кг. Поросята с живой массой при рождении 0,7-1 кг нуждаются в специальном уходе, а хрячки с живой массой 1,1-1,4 кг требуют повышенного внимания [3, 4, 5, 6].

Цель работы – выявление физиолого-цитологических особенностей скелетных мышц поросят в постнатальном онтогенезе с разной массой при рождении.

Материал и методика исследований. Для проведения экспериментов использовали поросят-гипотрофиков с первоначальной живой массой 870-950 г и поросят-нормотрофиков с живой массой 1050-1250 г. Для светооптического исследования фрагменты мышц фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, обрабатывали по стандартной методике и заключали в парафин или целлоидин, учитывая ориентацию мышечных волокон. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином в сочетании с реакцией Перлса, по ван Гизону с докраской эластических волокон резорцин-фуксином Вейгерта. На ротационном микротоме (МПС-2) получали парафиновые и целлоидиновые срезы толщиной 8-10 мкм.

Для электронно-микроскопического исследования брали кусочки мышц размером 1,5 x 1,5 мм и фиксировали в 2%-м растворе глутарового альдегида. В последующем ткани помещали в 5%-й раствор глутарового альдегида на 2 часа. Глутаровый альдегид готовился на 0,1М фосфатном буфере pH 7,2-7,4 и фиксировали при t+4°C. После 3-кратной промывки в 0,1М фосфатном буфере, материал обрабатывали 2%-м раствором четырехоксида осмия, дегидрировали в спиртах, возрастающей концентрации, контрастировали уранил ацетатом и заключали в аралдит. Срезы готовили на ультрамикротоме ЛКБ (Швеция), контрастировали цитратом свинца и просматривали под микроскопами JEM-100B и JEM-100CX (Япония).

Результаты исследований и их обсуждение. Анализируя полученные данные, можно констатировать, что у новорожденных поросят преобладают оксидативные (красные) мышечные волокна, количество которых достигает 74 %. К 30-дневному возрасту поросят их количество снижается до 58,3 %. Содержание белых мышечных волокон с 1- до 30-дневного возраста увеличивается с 23,2 до 69,4 %. С учетом этих данных прослежена динамика изменения пропорциональности красных, белых и промежуточных мышечных волокон у поросят-нормотрофиков (таблица).

Анализируя данные таблицы 1, можно отметить, что динамика изменения типов мышечных волокон имеет некоторые особенности в зависимости от функционального назначения мышцы. Для длиннейшей

мышцы спины свойственно интенсивное увеличение белых мышечных волокон с 27,6 % у 1-дневных поросят до 42,7 % у 30-дневных животных. Одновременно происходит постепенное снижение количества красных мышечных волокон с 58,2 до 46,6 %.

Подобная динамика также характерна для мышечных волокон трехглавого мускула плеча, где число красных мышечных волокон снижается с 80,4 до 52,4 %, а содержание белых мышечных волокон достигает 36,7 % в 30-дневном возрасте. У поросят 30-дневного возраста в лучевом разгибателе запястья красных мышечных волокон содержалось 50,4 % и белых мышечных волокон – 41,2 %, на промежуточные мышечные волокна приходилось 8,4 %.

Для мышц-сгибателей характерно активное нарастание белых мышечных волокон. Для сложных мышц, таких как трехглавый мускул плеча и четырехглавый мускул бедра, превалирующее место занимают красные мышечные волокна. Относительно промежуточных мышечных волокон можно отметить, что их содержание во всех изученных мышцах колеблется от 8,2 % у четырехглавого мускула бедра до 21,1 % у поверхностного пальцевого сгибателя.

Таблица – Содержание различных типов мышечных волокон в скелетных мышцах поросят-нормотрофиков, n = 12

Название мышцы	Возраст, дни	Типы мышечных волокон, %		
		красные	белые	промежуточные
1	2	3	4	5
Длиннейший мускул спины	1	58,2	27,6	14,2
	5	46,7	34,8	18,3
	20	42,4	38,9	18,7
	30	46,6	42,7	10,7
Средний ягодичный мускул	1	74,4	7,2	18,4
	5	68,8	11,7	19,5
	20	63,3	19,6	17,1
	30	50,2	39,9	9,9
Трехглавый мускул плеча (длинная головка)	1	80,4	6,2	13,4
	5	77,8	12,4	9,8
	20	70,9	17,8	11,3
	30	52,4	36,7	10,9
Лучевой разгибатель запястья	1	62,3	19,8	17,9
	5	60,7	23,3	16,0
	20	51,9	37,7	10,4
	30	50,4	41,2	8,4
Четырехглавый мускул бедра (прямая головка)	1	87,7	4,1	8,2
	5	83,3	9,7	7,0
	20	77,6	18,9	3,5
	30	56,8	38,3	4,9

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5
Поверхностный пальцевый сгиба- тель (тазовая ко- нечность)	1	58,8	20,1	21,1
	5	53,4	29,7	16,9
	20	47,7	39,2	13,1
	30	45,3	41,8	12,9

При анализе электронограмм внешний вид миофибрилл состоит: I- и А-полос и Z-дисков (или Z-линий, Z-полос). Эти и другие обозначения соответствуют терминам, происходящим из исследований мышц в поляризованном свете (I-изотропные, А-анизотропные) и терминологии немецких исследователей (Z – Zwischenscheibe, разделяющая линия; H – Helle Zone – светлая зона, светлая линия; M – Mittellinie – средняя линия).

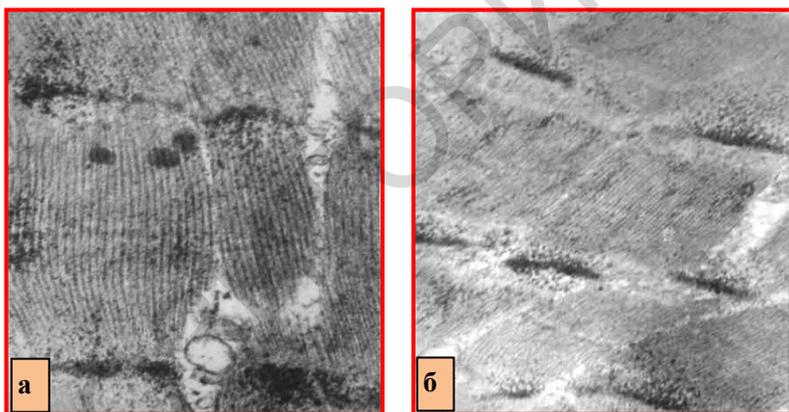
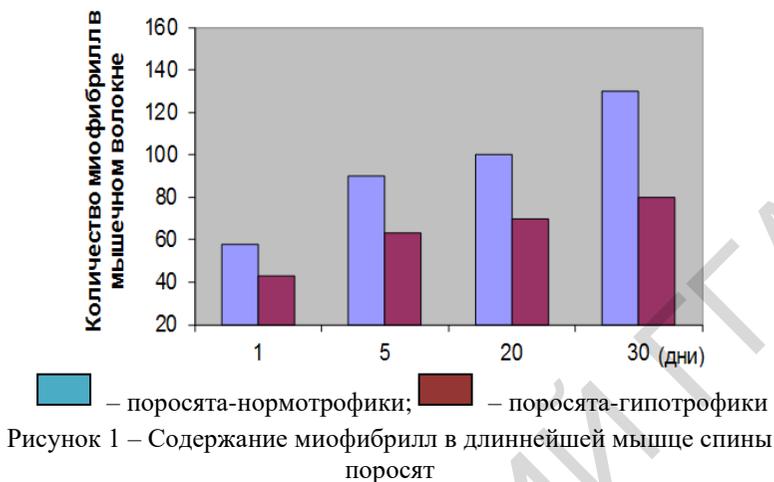
Содержание красных мышечных волокон у среднего ягодичного мускула уменьшается за 30-дневный период наблюдений с 74,4 до 50,2 % при соответствующем нарастании числа белых мышечных с 7,2 до 39,9 %.

Как свидетельствуют данные рисунка 1, наиболее активно происходит увеличение количества миофибрилл в длиннейшей мышце спины поросят-нормотрофиков между 20 и 30 днями постнатального развития. За этот промежуток времени их количество возрастает на 26,4 % ($P < 0,05$). У поросят-гипотрофиков отмечается некоторое торможение нарастания количества миофибрилл. За вышеуказанный промежуток времени их число возрастает всего лишь на 3,8-4,5 % ($P < 0,05$). У поросят 1-2-дневного возраста миофибрилл относительно немного, и они характеризуются рыхлым расположением в мышечном волокне (рисунок 2).

Содержание миофибрилл в средней ягодичной мышце у поросят-нормотрофиков за 30-дневный промежуток исследований возрастает на 76,9 %. Между 20 и 30 днями число миофибрилл увеличивается незначительно (на 9,5 %). У поросят-гипотрофиков в 1-дневном возрасте достоверных отличий в количестве миофибрилл не обнаружено.

Отставание в увеличении числа миофибрилл установлено в промежутке между 5 и 20 днями постнатального развития, где этот показатель был выше у физиологически развитых поросят на 35,7 % ($P < 0,01$). Эта же тенденция сохраняется между 20 и 30 днями развития поросят. В трехглавой мышце плеча максимальный прирост количества миофибрилл у поросят-нормотрофиков констатирован с 5- до 20-дневного возраста, увеличение этого показателя составило 41,0 %. В последующие десять дней наблюдений число миофибрилл на мышечное волокно увеличилось всего на 7,2 %.

Сравнительный анализ по этому показателю между поросятами-нормотрофиками и гипотрофиками показал, что до 20-дневного возраста достоверных различий не установлено.



а, б – мышечные волокна длиннейшей мышцы спины. Рыхлое расположение миофибрилл. Небольшие скопления гликогена вблизи Z-зоны. Среди миофибрилл локализуются единичные гранулы гликогена и липидные включения (б); а – поросята-нормотрофики, б – поросята-гипотрофики

Рисунок 2 – Ультраструктура мышечных волокон 1-дневных поросят. Электронограмма. Ув.: а, б – 10 000

С 1- до 20-дневного возраста у поросят-гипотрофиков увеличение количества миофибрилл составило 28,8 %, у поросят-нормотрофиков – 34,7 %. Стереологический анализ количества миофибрилл в лучевом разгибателе запястья у поросят-нормотрофиков достоверно начало

увеличиваться с 5-дневного возраста, и к 30-дневному возрасту это различие составило 44,6 % ($P < 0,05$).

У поросят-гипотрофиков, в отличие от других исследуемых мышц, в лучевом разгибателе запястья происходит постепенное нарастание количества миофибрилл, без резких скачков. Так, с 1-дневного возраста до 30-дневного возраста количество миофибрилл возросло на 27,8 % ($P < 0,05$). Достоверные различия в динамике развития миофибрилярного аппарата между поросятами-нормотрофиками и гипотрофиками намечаются между 20 и 30 днями, где этот показатель превышает на 64,4 % ($P < 0,05$). В динамике нарастания числа миофибрилл в четырехглавой мышце бедер, активный миофибриллогенез у поросят-нормотрофиков выявлен после 5-дневного возраста, где этот показатель к 20-дневному возрасту увеличился на 41,7 % ($P < 0,05$). До 30-дневного возраста установлено некоторое замедление нарастания миофибрилл, этот показатель на протяжении 10 дней увеличился на 4,4 %. Следует заметить, что у поросят-гипотрофиков не установлено достоверных различий в числе миофибрилл с 1- до 20-дневного возраста по отношению к поросьятам-нормотрофикам. За этот период наблюдается медленное нарастание этого показателя, увеличение концентрации миофибрилл у поросят-гипотрофиков, к 20-дневному возрасту повысилась на 36,9 % ($P < 0,05$).

Длина саркомеров длиннейшей мышцы спины с 1- до 30-дневного возраста у поросят-нормотрофиков увеличивается на 42,3 %, у среднего ягодичного мускула – на 95,3 %, у трехглавого мускула плеча – на 22,4 %, у лучевого сгибателя запястья – на 27,2 %, у четырехглавого мускула бедра – на 33,0 % и у поверхностного пальцевого сгибателя тазовой конечности – на 32,5 %.

У поросят-гипотрофиков установлены следующие показатели нарастания длины саркомеров: для длиннейшего мускула спины этот показатель с 1- до 30-дневного возраста составил 35,9 %, для среднего ягодичного мускула – 56,9 %, для трехглавого мускула плеча – 16,9 %, для лучевого сгибателя запястья – 15,0 %, для четырехглавого мускула – 12,2 % и для поверхностного пальцевого сгибателя – 4,0 %.

У поросят-нормотрофиков средняя длина саркомеров у длиннейшего мускула спины равнялась $0,96 \pm 0,03$ мкм, у поросят-гипотрофиков – $0,73 \pm 0,03$ мкм. Этот показатель у поросят-нормотрофиков превышает данные поросят-гипотрофиков на 31,5 % ($P < 0,01$). Длина саркомеров среднего ягодичного мускула для поросят-нормотрофиков была в пределах $0,89 \pm 0,04$ мкм, у поросят-гипотрофиков – $0,70 \pm 0,03$ мкм, превышение составило 27,1 % ($P < 0,05$).

Средняя длина саркомеров для трехглавого мускула плеча у поросят-нормотрофиков составляла $0,98 \pm 0,03$ мкм, у физически незрелых животных – $0,91 \pm 0,03$ мкм. Как видно, по этому показателю достоверных различий по данному показателю между сравниваемыми животными не установлено, различия составляет на уровне 7,7 %. Длина саркомеров у лучевого сгибателя запястья поросят-нормотрофиков в среднем равнялась $0,91 \pm 0,03$ мкм, у поросят-гипотрофиков – $0,86 \pm 0,03$ мкм. Следовательно, существенных различий между группами животных не выявлено, данные недостоверны, хотя длина саркомеров несколько выше у поросят-нормотрофиков – на 5,8 %.

Средняя длина саркомеров для четырехглавого мускула бедра у поросят-нормотрофиков достигала $1,02 \pm 0,02$ мкм, у поросят-гипотрофиков – $0,95 \pm 0,02$ мкм, различия между данными показателями составляют 73,7 % ($P < 0,05$). Длина саркомеров поверхностного пальцевого сгибателя тазовой конечности у физиологически зрелых поросят находилась в пределах $0,93 \pm 0,02$ мкм, у поросят-гипотрофиков – $0,86 \pm 0,03$ мкм.

Таким образом, ультраструктурный и стереологический анализ показали, что постнатальный миогенез характеризуется неравномерностью, что, возможно, зависит от функционального назначения каждой мышцы. В то же время у поросят-гипотрофиков отмечается замедление миогенеза, особенно среди таких мышц, как длиннейший мускул спины, средний ягодичный мускул, четырехглавый и трехглавый мускул плеча.

Заключение. В современном свиноводстве, характеризующемся концентрацией производства свинины на крупных комплексах с промышленной технологией, придается большое значение изучению биологических и физиологических особенностей животных. Основываясь на энергетическом базисе скелетных мышц, уровень физиологических отклонений различных функциональных систем в каждом возрастном периоде определяется текущими особенностями функционирования соматической мускулатуры, что определяет приоритетность исследований в области ветеринарной медицины.

Исходя из анализа морфометрических показателей, можно отметить, что некоторые группы мышц у поросят-гипотрофиков значительно отстают в своем развитии по сравнению с мышцами поросят-нормотрофиков. Следовательно, у поросят происходит активный процесс миогенеза, который можно корректировать путем различных биологических и физиотерапевтических воздействий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аршавский, И. А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития / И. А. Аршавский. – М.: Наука, 1982. – 270 с.

2. Володько, Я. Т. Ультраструктура внутримышечных микронасосов / Я. Т. Володько. – Минск: Наука і тэхніка, 1991. – 224 с.
3. Малашко, В. В. Патофизиологические механизмы диарейных заболеваний животных / В. В. Малашко, И. В. Кулеш, Н. В. Троцкая // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: материалы IV междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию кафедры разведения и генетики сельскохозяйственных животных БГСХА. – Горки, 2003а. – С. 161-164.
4. Малашко, В. В. Структурно-функциональные изменения в организме животных при воздействии стресс-факторов / В. В. Малашко, И. В. Кулеш, Т. М. Скудная // V междунар. науч.-практ. конф.: материалы науч. конф. – Горки, 2002а. – С. 249-250.
5. Малашко, В. В. Структурно-биохимические изменения в мышцах и печени свиней при применении низкоинтенсивного лазерного облучения / В. В. Малашко, Т. М. Скудная, Д. В. Малашко // Лазеры в биомедицине: тез. докл. междунар. конф.; Гродно 1-3 октября 2002 г. / Ин-т физики НАН Беларуси; редкол.: А. Н. Рубинов [и др.]. – Минск, 2002б. – С. 78.
6. Малашко, В. В. Структурно-функциональные перестройки в мышцах поросят-гипотрофиков при облучении лазером / В. В. Малашко, И. В. Кулеш, Л. М. Караедова // Перспективы развития свиноводства: материалы X междунар. конф.; Гродно, 8-9 июля 2003 г. – Гродно, 2003. – С. 124-126.
7. Машанский, В. Ф. Ранние реакции клеточных органоидов / В. Ф. Машанский, И. М. Рабинович. – Л.: Наука, 1987. – 120 с.
8. Митин, К. С. Ультраструктура скелетных мышц человека / К. С. Митин, С. М. Секамова, Н. А. Соколова // Арх. анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1973. – Т. 64, № 2. – С. 13-19.
9. Наследов, Г. А. Тоническая мышечная система позвоночных / Г. А. Наследов. – Л.: Наука, 1980. – 187 с. – Л., 1981. – С. 51-74.
11. Шевцов, В. И. Мышечные веретена при удлинении конечности: проприорецептивный конфликт или дефицит активности? / В. И. Шевцов, М. С. Сайфутдинов, Н. К. Чикорина // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2008. – Т. 146, № 7. – С. 114-116.
12. Шмерлинг, М. Д. Скелетная мышца: структурно-функциональные аспекты адаптации / М. Д. Шмерлинг, Е. Е. Филушина, И. И. Бузуева. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1991. – 121 с.
13. Close, R. L. Dynamic properties of mammalian skeletal muscle / R. L. Close // *Physiol. Rev.* – 1972. – Vol. 52, № 1. – P. 129.
14. Fits, R. D. Contractile properties of skeletal muscle from trained miniature pigs / R. D. Fits, F. Campion, R. Cassens // *Pflug. Arch.* – 1973. – S. 343-349.
15. Stein, I. M. Histochemical classification of individual skeletal muscle fibres of the rat / I. M. Stein, H. A. Padykula // *Amer. J. Anat.* – 1992. – Vol. 110. – P. 103-123.
16. Koishi, K. MyoD protein accumulates in satellite cells in neurally regulated in regenerating myotubes and skeletal muscle fibres / K. Koishi, M. Zhang, I. McLennan // *Dev. Dyn.* – 1995. – Vol. 202. – P. 244-254.