

На правах рукописи

Шумилов Валерий Степанович

**ВОЗРАСТНАЯ МОРФОЛОГИЯ МЫШЦ ГОРТАНИ
ЧЕЛОВЕКА**

14.00.02 - анатомия человека
03.00.25 - гистология, цитология и клеточная
биология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Уфа 2004



Работа выполнена в государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре анатомии человека и в государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре гистологии.

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор

Галина Васильевна Шумихина

Научный консультант:
доктор медицинских наук,
профессор

Виктор Михайлович Чучков

Официальные оппоненты:
доктор медицинских наук,
профессор
доктор медицинских наук

Эдуард Салихович Валишин
Хасан Хамзович Мурзабаев

Ведущее учреждение: государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Саратов.

Защита диссертации состоится «22» 04 2004 г. в 12:00 час. на заседании Диссертационного Совета Д 208.006.02 государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Башкирского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 450000, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Башкирского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автореферат разослан «17» 03 2004 г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета:**

доктор медицинских наук, профессор

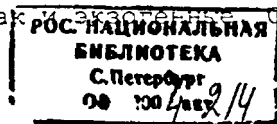
Р.Т. Нигматуллин

ВВЕДЕНИЕ

Гортань выполняет такие жизненно важные функции, как дыхательная, голосообразующая, защитная и изучается с разных позиций: физиологических, гистологических, анатомических, клинических. Она подвержена многим заболеваниям: туберкулез гортани (Ф.И. Чумаков 2001), поражение гортани при вторичном сифилисе кожи и слизистых оболочек (Ю.П. Федоров с соавт., 2002), сосудистые опухоли гортани у детей (Ю.Л. Солдатский с соавт., 2003), инородные тела в гортани (Ю.Л. Солдатский, Е.К. Онуфриева, Н.В. Щепин, 1999). Активно разрабатываются в последнее время новые методы лечения заболеваний гортани (Г.Ф. Иванченко, 1998; В.П. Цуриков с соавт., 1999). Использование новых методических подходов для общего обезболивания при оперативном лечении многих заболеваний требует знания топографо-анатомических особенностей дыхательных путей и гортани, в частности (Р.Г. Анютин с соавт., 2002).

Разнообразны морфологические исследования гортани как органа: А.С. Рахметова, (1971); И.В. Шевчука, (1998); G. Engelman, G. Leutert, (1989); M. Fischer, B. Tillmann, (1991); Silvia Neto Ismaela et al., (1992); Е.И. Поточкая, (1999); О.А. Корнейчук с соавт. (2002), в которых описано развитие хрящей гортани в возрастном аспекте, функциональная морфология желез слизистой оболочки гортани, изучены ферментоактивные зоны нейромышечных синапсов в отдельных мышцах гортани. Вопросы, касающиеся иннервации гортани, достаточно активно изучаются на протяжении последних пятидесяти лет (М.С. Грачева, 1953; В.К. Давыдов, 1975; L. Traissac, 1987; Г.К. Игнатъев, 1989; Г.К. Игнатъев, 1994; V. Kapur et al., 1990; А.М. Гуллыева, 1990; P. Brunet, B. Volet, P. Jirounek, 1991; Н.А. Огнерубов с соавт., 1999) и посвящены изучению морфологии и гистохимии рецепторного аппарата, становлению иннервации гортани в пренатальном онтогенезе и миелинизации гортанных нервов. Это обусловлено тем, что зрачи часто сталкиваются с патологией гортани, при которой страдает нервно-мышечный аппарат (Л.П. Щибчик, 1997; А.Н. Campbell, Н. Mestitz, R. Pierce, 1990; L.P. Randall, F. Robert, 1991; R.M. Kellman, D.A. Leopold, 1982).

Выполнение функций гортани зависят от нормального функционирования мышц, на что, в свою очередь, влияют многие факторы как эндогенные, так и экзогенные.



но, например, что женская гортань является гормонозависимым органом. Было установлено, что у певиц в различные периоды месячного цикла появляются нарушения голоса вследствие пониженного тонуса внутренних мышц гортани (С.И. Чернобельский, 2002).

От хорошо поставленного голоса, ясной и правильной речи в значительной мере зависит как социальное, так и профессиональное благополучие человека. Использование голоса в профессиональной деятельности у лиц речевых профессий создает особые условия работы голосо-речевого аппарата. Неправильное "пользование" гортанью может так же приводить к патологии. Узелки голосовых связок являются типичным профессиональным заболеванием голосового аппарата у вокалистов и лиц речевых профессий (О.Г. Павлихин, 2002; С.И. Чернобельский, 2002).

Несмотря на то, что в последние годы гортань исследуется и с морфологических позиций, но и на сегодняшний день недостаточно изучены гисто- и иммуногистохимические характеристики, мышц гортани, их становление в пренатальном онтогенезе и в разные возрастные периоды после рождения. Исчерченные мышцы гортани, в отличие от других скелетных мышц, происходящих из миобластов миотомов мезодермы, являются производными материала жаберных дуг (Б. Карлсон, 1984), что существенно отличает их по свойствам. В целом же, характеристика любой мышцы определяется содержанием в ней конкретных типов мышечных волокон. Классификаций последних существует достаточно много. Однако, для изучения скоростных характеристик наиболее адекватной является классификация основанная на гистохимическом выявлении АТФ-азы миозина (L. Guth and F. Samaha, 1970). Иммуногистохимические методы с использованием антител к различным сократительным белкам, в частности, к скелетно-мышечным миозинам (L. Gorsal, 1990) позволяют выделить в мышце два типа мышечных волокон медленные и быстрые.

По типу энергетического обмена мышечные волокна на основании активности гистохимически выявляемой сукцинат-дегидрогеназы (находится в составе внутренней мембраны митохондрий помимо ферментов дыхательной цепи, цитохромов, трансбелков) являющейся маркером для митохондрий и цикла Кребса, идентифицируют три типа: гликолитические, оксидативные и оксидативно-гликолитические. Гисто- и иммуногистохимические свойства исчерченных мышц представ-

ляются наиболее важными в функциональном плане, но не в полной мере изученными для гортанных мышц.

В настоящей работе морфометрическими, гисто- и иммуногистохимическими методами с использованием антител к миозинам нами изучен гисто- и иммуногистохимический профиль исчерченных мышц гортани в пренатальном онтогенезе и в разные возрастные периоды после рождения.

Цель и задачи исследования. Цель работы - установить динамику качественного состава миозина мышечных волокон, активности АТФ-азы и тип энергетического метаболизма исчерченных мышц гортани в различные возрастные периоды пре- и постнатального, онтогенеза.

Задачи исследования:

1. Изучить активность сукцинатдегидрогеназы мышечных волокон в разных функционально значимых мышцах гортани в пренатальном онтогенезе и в разные возрастные периоды после рождения.

2. Исследовать активность гистохимически выявляемой миофибриллярной аденозинтрифосфатазы в функциональных антагонистах гортани человека и ее изменения в пренатальном онтогенезе и после рождения у людей различных возрастных периодов.

3. Определить динамику иммуногистохимических характеристик, которые отражают качественный состав миозина в мышцах - антагонистах гортани в зависимости от возраста.

4. Сопоставить гисто- и иммуногистохимические характеристики гортанных мышц в период первого детства и в подростковый период.

Научная новизна. Полученные результаты существенно расширяют наши представления о процессах протекающих при развитии мышц гортани человека, поскольку изучены наиболее значимые характеристики различных мышц гортани как в пренатальном онтогенезе, так и в ранние периоды постнатального онтогенеза.

Установлено, что в изученные возрастные периоды (пренатальный онтогенез и постнатальный онтогенез, включая юношеский возраст) в изученных мышцах гортани преобладают оксидативно-гликолитические и оксидативные мышечные волокна, что косвенно свидетельствует об их высокой работоспособности и малой утомляемости.

Выявлено, что к двадцати годам изученные мышцы по активности АТФ-азы неравнозначны. Более 50% мышечных во-

локон приходится на волокна с низкой активностью АТФ-азы, но достаточно высок и процент относительного содержания мышечных волокон, имеющих высокую активность АТФ-азы (40%) .

Динамика иммуногистохимического профиля характеризуется постепенным снижением относительного содержания быстрых мышечных волокон, но во всех изученных возрастных периодах они являются преобладающими в гортанных мышцах.

Положения выносимые на Защиту:

1. Гисто- и иммуногистохимический профиль изученных мышц гортани формируется к 18-20 годам и характеризуется преобладанием в мышцах гортани оксидативно-гликолитических и оксидативных мышечных волокон и высоким содержанием как мышечных волокон с высокой АТФ-азной активностью, так и с низкой.

2. Мышцы гортани содержат быструю изоформу миозина, динамика изменения которой носит плавный характер на протяжении изученных возрастных периодов и характеризуется постепенным снижением относительного содержания быстрых мышечных волокон.

3. Период полового созревания характеризуется в большей степени индивидуальной динамикой гисто- и иммуногистохимического профиля мышц гортани.

Научно-практическая ценность. Полученные результаты существенно расширяют представление о развитии и становлении гортани как органа, позволяют сопоставить в возрастном аспекте динамику развития мышц гортани и ее функциональные характеристики. Данные, полученные в ходе работы объяснят в определенной мере причины хороших вокальных данных у детей раннего возраста, а так же дают возможность разобраться в причинах нарушения голосовой функции в период полового созревания.

Следует отметить, что насколько индивидуален голос человека, настолько и индивидуальны мышцы гортани по "набору" мышечных волокон в них, что несомненно должно быть учтено при работе с детьми дошкольного и школьного возраста в плане определения возрастных голосовых нагрузок.

Наши данные позволяют лучше разобраться в патогенезе дискинезий, обусловленных нарушением двигательной функции и одной из причин которых является нарушение нервно-мышечного аппарата гортани.

Нами предпринята попытка сопоставления гисто- и иммуногистохимического профиля мышц гортани у мальчиков и

девочек, что безусловно актуально, поскольку сейчас при лечении ряда заболеваний гортани используется поло-возрастной подход.

Апробация работы. Основные положения работы доложены и обсуждены на научной конференции "Актуальные вопросы медицинской морфологии" (Ижевск, 1993); на научной конференции "Морфологические основы гистогенеза и регенерации тканей" (Санкт-Петербург, 2001); IV международной конференции по функциональной нейроморфологии (Санкт-Петербург, 2002); VI конгресс международной ассоциации морфологов (Уфа, 2002); на научных конференциях, отраженных в трудах Ижевской государственной медицинской академии (2000, 2001), межкафедральном заседании кафедр медицинской биологии, гистологии, анатомии человека (2003).

Реализация результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 8 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста и включает 9 таблиц, 21 гистограмму, 21 микрофотографию. Список литературы (на 17 страницах) представлен 185 источниками из них: 82 отечественных 103 иностранных авторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на мышцах гортани трупов плодов, новорожденных и возрастных периодов онтогенеза, включая юношеский возраст. Материал для исследования забирали не позднее 8 часов с момента наступления смерти в моргах Республиканского бюро судебно-медицинской экспертизы и детским морге г.Ижевска у лиц, погибших вследствие несчастных случаев или вследствие заболеваний, не связанных с патологией дыхательной системы. В соответствии с целью и задачами исследования изучены следующие мышцы гортани: задняя перстнечерпаловидная (*m. cricoarytenoideus posterior*) - расширитель голосовой щели (дилататор), поперечная черпаловидная (*m. arytenoideus transversus*) - суживатель голосовой щели (констриктор), голосовая (*m. vocalis*), - изменяет напряжение голосовых связок. Все мышцы распределяли на группы согласно возрастной периодизации (Л.К. Семенова, 1969) для характеристики в постнатальном онтогенезе. Эта классификация предусматривает следующие периоды: новорожденный (1 - 10 дней); грудной возраст (10 дней - 1 год); раннее детство (1 - 3 года);

первое детство (4 - 7 лет); второе детство (8 - 12 лет - мальчики; 8 - 11 лет - девочки); подростковый возраст (13 - 16 лет - мальчики; 12 - 15 лет - девочки); юношеский возраст (17-21 год - юноши; 16 - 20 лет - девушки). Принимая классификацию за основу, мы делаем оговорку: грудной возраст с 11 дня до 1 года, а раннее детство и последующие периоды с календарного года включительно, иначе вышеуказанные периоды могут быть одновременно отнесены в две возрастные группы. Период внутриутробного развития классифицирован по Г.А.Шмидту (1972) и делится на 2 группы: первая - плоды 4-6 месяцев, вторая - плоды 7-9 месяцев. Всего изучено 412 мышц.

Гортань извлекалась, выделялись исследуемые мышцы, которые помещали в жидкий азот, а далее полученные криостатные срезы, обрабатывались с помощью гисто- и иммуногистохимических методов.

Выявление сукцинатдегидрогеназы

Методом с нитросиним тетразолием (А. Пирс, 1962) определяли активность сукцинатдегидрогеназы. Криостатные срезы толщиной 12 мкм подсушивали на предметных стеклах и помещали в инкубационную среду следующего состава: в 5 мл 0,1М фосфатного буфера с рН 7,5 растворяли 5 мг нитросинего тетразолия и 13,5 мг сукцината натрия. Инкубация проводилась в течение 30-60 минут при 37°C. Далее срезы отмывали большим количеством дистиллированной воды и после обезвоживания заключали в бальзам. Несмотря на то, что в литературе отмечена малая изменчивость активности сукцинатдегидрогеназы даже через 48 часов после смерти (З.Лойда, Р.Госсрау, Т.Шиблер, 1982; Р.В.Тамбовцева, 1996), исследуемый нами материал выявлялся плохо уже после 12 часов, не говоря о более поздних сроках.

Выявление АТФ-азы миозина

Определение щелочностабильной АТФ-азы миозина проводили по L.Guth and F.I.Samaha (1970) на криостатных срезах толщиной 8 мкм. Подсушенные на стеклах срезы мышц помещали в щелочную инкубационную среду следующего состава: 4 мл 0,1 м /л барбитурата Na, 4 мл 2% хлористого кальция, 12 мл воды, рН среды- 10,4. В этой смеси срезы инкубировали 15 минут, после чего отмывали 10 минут большим объемом 2% раствора хлористого кальция, а затем помещали в инкубационную среду следующего состава: 4 мл 0,1 м /л раствора барбитурата натрия, 2 мл 2% раствора хлорис-

того кальция, 50 мг АТФ, 14 мл воды, рН среды - 9,4. В этом растворе срезы инкубировались от 15 минут до получаса, после чего вновь отмывались большим количеством 2% раствора хлористого кальция, а затем на 5-10 минут помещались в 2% раствор хлористого кобальта. Далее срезы отмывали в 5-6 сменах 0,01 м раствора барбитурата натрия, а затем фиксировали в течение 5 минут в растворе, состоящем из 3,3 мл 40% формалина, 20 мл 0,01 м раствора барбитурата натрия, 7,5 мл 2% хлористого кальция, 11,5 г сахарозы, рН раствора доводили до 7,6, а объем до 100 мл. После фиксации проводили отмывку препаратов 0,1 м/л трис буфером с рН 7,8, содержащим хлористый кальций в 2% конечной концентрации. Отмытые срезы на 20-40 сек. Помещали в 1% раствор желтого сульфида аммония. После этого препараты отмывали большим объемом дистиллированной воды и заключали в бальзам.

Иммунофлуоресцентное окрашивание поликлональными моноспецифическими антителами к быстрому и медленному миозинам*

Для иммуногистохимического выявления быстрого и медленного миозинов был применен непрямой метод иммунофлуоресцентного анализа по Кунсу (Г.Фримель, 1987). Для этого на подсушенные в течение получаса криостатные срезы мышц толщиной 7-8 мкм микропипеткой наносится рабочее разведение первых АТ (IgG кролика). Антитела разводились забуференным фосфатным буфером физиологическим раствором с рН 7,2. Инкубация продолжалась около получаса во влажной камере при комнатной температуре. Затем срезы отмывались большим объемом физиологического раствора на фосфатном буфере с рН 7,2. После этого на препараты наносился раствор конъюгированных с флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ) антител к кроличьему Ig G (Sigma) - это так называемые вторые антитела. После получасовой инкубации срезы вновь отмывались большим объемом забуференного физиологического раствора, слегка подсушивались, после чего заключались в забуференный глицерин. Препараты просматривались в люминесцентный микроскоп МЛ-3. Зеленое свечение на препарате свидетельствовало о наличии антигена в поле зрения.

Окраска гематоксилином и эозином

Криостатные срезы толщиной Юмкм высушивали при комнатной температуре и окрашивали гематоксилином и эозином

* Этот фрагмент работы выполнен на кафедре гистологии Казанского медицинского университета. Особая благодарность заведующему кафедрой гистологии профессору Ю.А.Чалышеву за предоставленные возможности работы на кафедре и профессору В.В.Валзуллину за практическую помощь при выполнении этого фрагмента работы.

(Б.Ромейс, 1953). Препараты заключали в бальзам и использовали для определения площадей поперечного сечения мышечных волокон в различных мышцах гортани.

В каждой мышце обсчитывали не менее 400 мышечных волокон.

Статистическая обработка результатов

Проводилась на ПЭВМ IBM PC/AT с помощью программы STATGRAPHICS по t-критерию Стьюдента. Относительное содержание мышечных волокон разных типов во всех изучаемых возрастных группах сравнивали с мышцами группы 18-летних.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гисто- и иммуногистохимическая характеристика мышц гортани в возрастном аспекте остается до настоящего времени недостаточно изученной. В своем исследовании нами выбраны наиболее важные характеристики изучаемых мышц гортани, в частности, энергетический метаболизм, основанный на изучении активности сукцинатдегидрогеназы. На основании полученных данных можно судить об утомляемости гортанных мышц. Качественный состав миозина и его АТФ-азная активность позволяют судить о скоростных и силовых характеристиках мышц.

Мышцы гортани, как и другие скелетные мышцы, имеют в своем составе мышечные волокна разных типов. В целом же тип мышцы определяется в зависимости от того, какие мышечные волокна в ней преобладают.

Мышцы гортани относятся к скелетным мышцам и основные периоды их дифференцировки совпадают в постнатальном онтогенезе с дифференцировкой большинства скелетных мышц (Л.А. Алексина, Е.Р. Борисов, Н.А. Карлова, 1994; В.И. Коркач, 1988). Гортань является гормонозависимым органом. Установлено, что повышение или понижение уровня гормонов отражается на функции мышц и приводит к изменению их структуры (В.В. Валиуллин и др. 1983, 1986, 1987, 1994, 1998; J. Mc Geachie, 1989; R. Wroblewski et al. 1989). Уровень гормонов в течение жизни изменяется естественным образом (Р.А. Дзамуков, 1995). Для гортани период полового созревания является одним из важных, поскольку в этот период у мальчиков меняется голос и в этом процессе не последнюю роль играют мышцы гортани. Следует отметить, что у разных людей в течение жизни разная голосовая нагрузка, что может быть обусловлено различными факторами:

в какой семье воспитывается ребенок, какова выбранная им профессия и т.д. А как отмечалось выше, уровень функциональной активности влияет на структуру мышц (D. Goldspink et al. 1986; S. Matolin et al. 1988).

Нарушение кровоснабжения также приводит к различным изменениям структуры мышц (И.В. Косникова, 1989; И.В. Косникова, В.А. Хорошаев, 1989; В.В. Валиуллин, 1996; Т.В. Шинкаренко, В.А. Соловьев, Н.Н. Слюсарь, 2000).

Возникающий звук обладает тремя качествами: высотой-зависящей от частоты колебаний голосовых связок; громкостью, обусловленной амплитудой колебаний; тембром-окраской, определяемой формой колебаний голосовых связок. Активную роль в процессе образования голоса играют мышцы гортани.

В основе классификаций мышц гортани лежит их функция. Так, А.А. Гладков, (1973) выделяя наружные и внутренние мышцы гортани, среди последних различает суживатели (боковая перстнечерпаловидная, поперечная межчерпаловидная, косая черпаловидная, внутренняя щиточерпаловидная) и расширители - задние перстнечерпаловидные мышцы. В.С. Крылов, Р.А. Фельбербаум, Г.М. Экимова (1984) отмечают наличие двух функционально различных групп мышц гортани: отводящие - задние перстнечерпаловидные и приводящие - все остальные. Нами использована классификация М.Р. Сапина (2000), согласно которой выделяют мышцы-расширители голосовой щели (дилататоры) - задняя перстнечерпаловидная, суживают голосовую щель (констрикторы) - латеральная перстнечерпаловидная, щиточерпаловидная, поперечная и косая черпаловидная мышцы; мышцы, натягивающие голосовые связки - голосовая и перстнещитовидная мышцы.

Нами изучались задняя перстнечерпаловидная (расширитель голосовой щели), поперечная черпаловидная (суживатель голосовой щели), и голосовая мышца (изменяют напряжение голосовых связок).

У плодов в 4 - 6 месяцев мышцы гортани анатомически оформлены и к моменту рождения хорошо различимы (Г.В. Шумихина, 1997).

В зависимости от условий, определяющих деятельность мышц гортани их поведение может изменяться как качественно, так и количественно (Б.С. Крылов, Р.А. Фельбербаум, Г.М. Экимова, 1984). Немаловажным фактором является устойчивость мышечных волокон к утомлению. Установлена пря-

мая зависимость между характером энергетического метаболизма и участием мышечных волокон в различных видах мышечной деятельности (М.А. Калинин, В.А. Рогозкин, 1989). Гистохимическое выявление активности сукцинатдегидрогеназы позволило выявить в мышцах гортани присутствие мышечных волокон трех типов: гликолитических (тип А) - это волокна которые осуществляют мощные, но кратковременные сокращения; окислительных (тип С) - могут длительно работать, но с низкой интенсивностью; оксидативно-гликолитических (тип В) - присутствуют свойства тех и других мышечных волокон. Присутствие в истощенных мышцах человека мышечных волокон разных типов отмечено в работах М.Б. Гарифьяновой (1997), Р.В. Тамбовцева (1996), Г.В. Шумихиной (1997).

Однако, в период внутриутробного развития активность сукцинатдегидрогеназы очень низка и идентификация мышечных волокон не представляется возможной. Мышечные волокна на поперечном срезе окрашены однородно и отнести их к какому-либо типу невозможно. Заметим, что в ряде случаев и после рождения типирование мышечных волокон по активности сукцинатдегидрогеназы было затруднено. Период от новорожденности до 1-го года характеризуется наличием в мышцах гортани (голосовой, задней перстнечерпаловидной и поперечной черпаловидной) мышечных волокон трех типов: гликолитических, оксидативных и оксидативно-гликолитических. Последние являются преобладающими. Более всего их в голосовой мышце - $88,57 \pm 4,91\%$, а менее всего в задней перстнечерпаловидной мышце - $69,56 \pm 4,82\%$. Какую-либо тенденцию на протяжении первого года выявить сложно. Относительное содержание гликолитических и оксидативных мышечных волокон достаточно варибельно.

Голос новорожденного, подчиняясь безусловнорефлекторным механизмам, бывает различным по силе, но всегда одинаков по высоте и почти не отличается по тембру у всех детей обоего пола (асексуальность) (И.Максимов, 1987). В периоде раннего детства типирование мышечных волокон не выявляет кардинальных изменений. Относительное содержание мышечных волокон разных типов в изучаемых мышцах гортани человека варьирует незначительно: по-прежнему, преобладают оксидативно-гликолитические волокна. Гликолитические волокна составляют в изученных мышцах гортани человека от 10% до 17% , а оксидативные 9% до 12% . Голосовой

диапазон в течение первых двух лет жизни ребенка обогащается и постепенно расширяется до 12-летнего возраста (И. Максимов, 1987) .

Гистохимический профиль в период второго детства (4 - 7 лет), когда ребенок идет в школу остается малоизменным, в сравнении с предыдущим возрастным периодом. Мышцы гортани в этот период достаточно хорошо сформированы, увеличивается площадь поверхности гортанных мышц, увеличивается вес гортанных мышц, практически все мышечные волокна достигают мест фиксации (Г.В. Шумихина, 1997, 1998, 1999). Поскольку активность фермента сукцинатдегидрогеназы свидетельствует о типе энергетического метаболизма и, соответственно, устойчивости к утомлению, то мышца, имеющая в своем составе все три типа мышечных волокон (оксидативные, оксидативно-гликолитические, гликолитические) способна "подстраиваться" под изменяющуюся нагрузку.

Таким образом, в преддверии обучения в школе в мышцах гортани преобладают оксидативно-гликолитические волокна, которые проявляют черты как оксидативных, так и гликолитических волокон и, следовательно, устойчивы к утомлению.

В конце периода второго детства гистохимический профиль голосовой, задней перстнечерпаловидной и поперечной черпаловидной мышц характеризуется вариабельностью, особенно у лиц мужского пола. В большей степени это характерно для периода полового созревания (подростковый возраст) . Относительное содержание мышечных волокон с разным типом метаболизма в этот период может отличаться кардинально. Но в целом для конкретного объекта (или случая) "усредненный" гистохимический профиль в разных мышцах гортани практически отличается не на много. Но необходимо ещё раз подчеркнуть, что "скачки" относительного содержания того или иного типа мышечных волокон в конкретном случае могут отличаться от средних показателей на значительную величину. По-прежнему, преобладающими являются оксидативно-гликолитические мышечные волокна. Все вышеописанное можно объяснить возможным гормональным влиянием на фенотип мышц в этот период, тем более, что в литературе имеются подобные данные (Р.В. Тамбовцева, 1996, В.В. Валиуллин, 1996) и др. Так, Р.В. Тамбовцева (1996), изучая изменение активности сукцинатдегидрогеназы в мышечных волокнах четырехглавой мышцы бедра у мальчиков 7 - 17 лет отмечает, что в 11 - 12 лет наблюдается заметное

снижение активности сукцинатдегидрогеназы, а к четырнадцатилетнему возрасту активность фермента смещается в сторону увеличения волокон с окислительным типом энергообеспечения. Однако далее происходит резкое снижение окислительных возможностей. Автор считает, что эти процессы в значительной степени контролируются мужскими половыми гормонами.

К 18 годам гистохимический профиль изучаемых мышц гортани стабилизируется и до 21 года изменения его не находят статистической достоверности.

Таким образом, очевидно полагать, что на протяжении первых лет жизни ребенка под влиянием внешних и внутренних факторов происходит адаптация мышц гортани, формируется определенный метаболизм, а именно: большая часть мышечных волокон в изученных мышцах гортани в постнатальном онтогенезе является оксидативно-гликолитическими, в целом в мышцах присутствуют все три типа, что при постоянной голосовой нагрузке делает мышцы менее утомляемыми. Т.е. практически сохраняется изначальный уровень соотношения разных типов волокон.

Активность миофибриллярной АТФ-азы коррелирует со скоростными характеристиками мышечного волокна. Данная классификация является постоянно используемой и предполагает, что быстрому миозину свойственна высокая активность АТФ-азы, а медленному миозину - низкая. По активности миофибриллярной АТФ-азы выделяют мышечные волокна двух типов: имеющие низкую АТФ-азную активность (медленные) и высокую АТФ-азную активность (быстрые). Выявление активности миофибриллярной АТФ-азы становится практически возможным на девятом месяце внутриутробного развития и в первую неделю после рождения уже можно отметить неоднородность волокон, присутствующих в мышцах гортани. Нами установлено, что в голосовой, поперечной черпаловидной, задней перстнечерпаловидной мышцах присутствуют два типа мышечных волокон: имеющие низкую АТФ-азную активность (I тип) - медленные и высокую АТФ-азную активность (II тип) - это быстрые волокна. По площади мышцы они распределяются неравномерно. Есть участки, и достаточно большие, где присутствуют только быстрые мышечные волокна, либо регионы с большим количеством медленных волокон, но чаще всего они расположены неупорядоченно по отношению друг к другу. Об изменчивости распределения мышечных волокон в поперечном

сечении мышцы отмечено в работе G. Leese., D. Hopwood (1986). На первом году жизни в изучаемых мышцах гортани человека преобладают медленные мышечные волокна, составляя более 70%. Однако, уже в этом возрастном периоде в ряде случаев мышцы гортани содержали третью часть быстрых мышечных волокон и иногда и более. До периода первого детства постепенно нарастает относительное содержание быстрых волокон в голосовой, поперечной черпаловидной и задней перстнечерпаловидной мышцах гортани, составляя в этих мышцах почти третью часть. Несколько большее содержание выявлено в этом возрастном периоде в голосовой мышце гортани человека (33,67±2,48%). Период второго детства по количественным характеристикам мало отличим от предыдущего, хотя у мальчиков 12 лет содержание мышечных волокон разных типов становится более вариабельным и нередко быстрые мышечные волокна составляют по содержанию более 30%. Но в ещё большей степени, эта вариабельность выражена в подростковом периоде. Относительное содержание быстрых мышечных волокон приближается к 40% и более всего быстрых мышечных волокон содержится в голосовой мышце - 39,89±4,37%. Причем, если быстрые мышечные волокна преобладают - в констрикторе, то их скорее всего больше будет и в дилататоре, и мышце, изменяющей напряжение голосовых связок (если рассматривать каждый конкретный случай). Т.о. - в подростковом возрасте, как ни в каком другом, имеют место индивидуальные особенности и не случайно время наступления мутации голоса колеблется от 11 - 12 лет до 18 лет и растянуто во времени от одного до нескольких месяцев или 2 - 3 и даже пяти лет.

Известно, что на фонаторную функцию гортани оказывают влияние гормоны щитовидной железы, надпочечники, половые гормоны, гипофиз, которые являются возбудителями гортанных мышц (В.Г. Ермолаев, Н.Ф. Лебедева, В.П. Морозов, 1970). Подтверждение влияния гормонов на гистологические и гистохимические характеристики мышц описано в работах Р.А. Дзамукова (1995), В.В. Валиуллина (1996). К восемнадцати годам гистохимический профиль стабилизируется и в дальнейшем практически не происходит резких колебаний на протяжении юношеского возраста.

Иммуногистохимическое типирование проводилось нами иммунофлюоресцентным методом с использованием поликлональных моноспецифических антител к медленному миозину. Выяв-

лено, что изучаемые мышцы гортани гетерогенны и по этому признаку и в них содержатся мышечные волокна как медленные, так и быстрые. В период от новорожденности до года в голосовой, задней перстнечерпаловидной и поперечной черпаловидной мышцах преобладают быстрые мышечные волокна, а количество медленных минимально и составляет от 9% до 14%. В период раннего детства относительное содержание быстрых и медленных волокон практически не изменяется, а периоды первого и второго детства характеризуются увеличением доли медленных мышечных волокон при значительном преобладании быстрых. Сохраняется та же тенденция вариабельности относительного содержания быстрых и медленных мышечных волокон в мышцах гортани в период полового созревания.

В юношеском возрасте, в частности, после 18 лет, относительное содержание мышечных волокон разных типов в мышцах гортани человека относительно стабильно.

Изучив гисто- и гистохимические характеристики мышц гортани в пре- и постнатальном онтогенезе становится очевидным, что наибольшие изменения этих параметров в изученных мышцах гортани отмечаются в период полового созревания. Этот этап онтогенетического развития характеризуется индивидуальной перестройкой в мышцах гортани конкретного человека под влиянием гормонального фона, а также ряда внешних и внутренних факторов. При этом изменяются и скоростные характеристики мышц. Все вышеуказанное оказывает воздействие на активность мышц, а следовательно, и на работу связочного аппарата, суставов гортани и, таким образом, определяет голосообразование каждого человека. Поэтому и процесс мутации голоса протекает исключительно индивидуально и может быть растянут во времени. Очевидно, что и качество голоса обусловлено в той или иной степени функцией гортанных мышц. Особенности голоса, ранние хорошие вокальные данные, вероятно, также можно рассматривать с позиций гисто- и иммуногистохимических характеристик мышц гортани у конкретного человека.

Таким образом, изучение мышц гортани человека в онтогенезе позволило выявить закономерности развития гортанных мышц в изученные возрастные периоды.

ВЫВОДЫ

1. Активность сукцинатдегидрогеназы мышечных волокон в поперечной черпаловидной, голосовой, задней перстнечерпаловидной мышцах гортани человека в пренатальном онтогенезе и в возрастные периоды постнатального развития изменяется мало. В изученных мышцах преобладают оксидативно-гликолитические мышечные волокна.

2. В исследованные возрастные периоды в мышцах-антагонистах гортани человека, установлено наличие мышечных волокон, имеющих как низкую, так и высокую активность фермента миофибриллярной аденозинтрифосфатазы.

К юношескому периоду около 40% приходится на долю мышечных волокон, имеющих высокую АТФ-азную активность.

3. В мышцах - антагонистах гортани человека в онтогенезе динамика иммуногистохимического профиля отражающего качественный состав миозина, проявляется постоянным увеличением относительного содержания доли медленных мышечных волокон при явном преобладании быстрых волокон во все изученные возрастные периоды.

4. Становление гисто- и иммуногистохимического профиля происходит в первые годы жизни ребенка. В юношеском возрасте (после 18 лет) его показатели не претерпевают резких изменений.

5. Подростковый период (период полового созревания) характеризуется строго индивидуальными, вариабельными показателями гисто- и иммуногистохимического профиля, что, вероятно, обуславливает растянутые сроки мутации гортани.

6. Подростковый период (период полового созревания) характеризуется индивидуальными вариабельными показателями гисто- и иммуногистохимического профиля, мышц - антагонистов гортани, что обуславливает, вероятно, и сроки мутации голоса.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шумихина Г.В., Шумилов В.С., Шишова Л.И. Морфологическая характеристика терминального аппарата двигательных нервных окончаний дыхательных мышц // В сб.: "Актуальные вопросы медицинской морфологии", Ижевск, 1993, с.645-647
2. Шумилов В.С., Шумихина Г.В. Морфометрическая характеристика и гистохимический профиль голосовой мышцы у детей в период раннего детства // В сб.: Труды Ижевской государственной медицинской академии, Ижевск, 2000, Т.38, с.40
3. Шумихина Г.В., Шумилов В.С. Гистохимический профиль передней перстнещитовидной мышцы гортани у новорожденных и детей до года // В сб.: Труды Ижевской государственной медицинской академии, Ижевск, 2000, Т.38, с.43
4. Шумилов В.С., Шумихина Г.В., Ибраев Р.З., Кравчук А.П. Характеристика перстнещитовидной мышцы гортани в период раннего детства // Российские морфологические ведомости, М.: 2000, №3-4, с.188-190
5. Шумилов В.С., Шумихина Г.В., Ибраев Р.З. Анатомическая характеристика и иммуногистохимический профиль голосовой мышцы гортани у детей в период раннего детства // / Материалы науч. конф. "Морфологические основы гистогенеза и регенерации тканей", С.-Петербург, 2001, с.132-133
6. Шумихина Г.В., Шумилов В.С., Ибраев Р.З., Файзулин А.В. Типирование мышечных волокон в перстнещитовидной мышце гортани человека в период второго детства // В сб.: Труды Ижевской государственной медицинской академии, Ижевск, 2001, Т.39, с.59-60
7. Сабельников Н.Е., Чучков В.М., Шумихина Г.В., Шумилов В.С. Гистохимическая характеристика области нейромышечного синапса мышц гортани и глотки крысы // Российские морфологические ведомости, М.: 2001, N 3-4, с.59-60
8. Шумихина Г.В., Корнейчук О.А., Шумилов В.С., Шилкин В.В. Качественная характеристика области нейромышечных синапсов мышц гортани человека // IV международная конференция по функциональной нейроморфологии, С.-Петербург, 2002, с.138-139
9. Шумилов В.С., Шумихина Г.В., Корнейчук О.А. Иммуногистохимический профиль перстнещитовидной мышцы гортани у детей в период раннего детства // Морфология, Т.121, №2-3, 2002, с.184-185

Издательство «Экспертиза»
ЛУ N°66 от 05.04.1999 г.
426009, г. Ижевск, ул. Ленина, 87-а,
тел. 75-24-93

19 стр. тираж 100 экз.
Подписано в печать 26.02.2004

W-5334