

MIECZYŚLAW KRAUSE, ZYGMUNT STĘPLEWSKI

O ZMĘCZENIU W SYNAPSIE NERWOWO-MIĘŚNIOWEJ

Z Zakładu Fizjologii Śląskiej A. M. w Zabrze-Rokitnicy
p. o. kierownika: dr M. Krause

Drażniąc nerw preparatu nerwowo-mięśniowego można po pewnym czasie stwierdzić, że mięsień preparatu przestaje się kurczyć. Pojawia się zjawisko zmęczenia.

Preparat nerwowo-mięśniowy jest tworem złożonym z kilku elementów, niejednakowo podatnych na zmęczenie. Nasuwa się pytanie, który z elementów preparatu należy uważać za część męczącą się najwcześniej. Pierwsza składowa preparatu, tzn. nerw, jest bardzo odporny na zmęczenie [1, 4, 20]. Drażniczy przez kilka godzin przewodzi nadal, wykazując jedynie niewielkie zmiany w czasie trwania okresu refrakcyjnego [11] i w potencjałach następczych [12].

Ostatnio pojawiły się doniesienia [17], że drażnienie nerwu preparatu nerwowo-mięśniowego szczura może spowodować blok cienkich odgałęzień nerwowych przebiegających śródmięśniowo. Blok ten, zdaniem autorów, jest wynikiem anoksji. Wydaje się, że pojawienie się takiego bloku w preparacie nerwowo-mięśniowym żaby, bardzo odpornym na niedotlenienie, jest mało prawdopodobne.

Pozostają zatem do dyskusji dwa inne elementy tzn. synapsa i mięsień, co do których zdania są podzielone. Jedni uważają, że jako pierwsza męczy się synapsa [18], inni że elementem najbardziej podatnym na zmęczenie jest mięsień [5]. Dylemat można rozstrzygnąć przy pomocy prostego doświadczenia. Jeśli po pojawieniu się zmęczenia preparatu podrażni się mięsień bezpośrednio, wówczas kurczy on się w tym samym stopniu jak poprzednio, gdy drażniono go pośrednio. Wynik podobnego doświadczenia przedstawiono na ryc. 1. Skoro nie męczy się ani nerw ani mięsień, trzeba przyjąć, że częścią preparatu męczącą się najwcześniej jest synapsa.

Badania ostatnich lat [6, 7, 14] wykonane przy użyciu mikroelektrod i mikropipet wykazały, że synapsa nerwowo-mięśniowa jest złożonym tworem, w którym w toku przenoszenia pobudzenia przebiega łańcuch skomplikowanych reakcji. Według przyjętej obecnie ogólnie teorii chemicznego

przenoszenia pobudzenia w synapsie nerwowo-mięśniowej, impuls doszedłszy do zakończenia nerwowego powoduje wydzielenie stąd przENOŚNIKA (acetylocholinY), która dyfunduje poprzez synapsę do płytki końcowej i łączy się ze znajdującą się tu substancją recepcyjną. Reakcja zachodząca między acetylocholiną i substancją recepcyjną zmienia własności fizykochemiczne płytki końcowej i powoduje pobudzenie mięśnia.

Zjawisko zmęczenia w synapsie może być następstwem jednego z następujących procesów:

1. Wyczerpanie się zapasu acetylocholinY w aksonie.
2. Zmiany funkcjonalne w zakończeniu nerwowym uniemożliwiające wydzielanie z jednostek subcelularnych zakończenia ilości acetylocholinY koniecznej do przeniesienia pobudzenia.
3. Zmniejszenie liczby obrotów esterazy cholinowej, która nie nadaje hydrolyzować wydzielonej acetylocholinY. Acetylocholina gromadzi się w synapsie i trwale depolaryzuje płytkę końcową.
4. Zmiany fizykochemiczne w samej płytce końcowej uniemożliwiające wydzielonej acetylocholinie depolaryzację płytki.

W r. 1955 Zawadzki wysunął hipotezę, że przyczyną zmęczenia w synapsie może być wyczerpanie się przENOŚNIKA w neuronie. Przedmiotem niniejszej pracy są badania nad sprawdzeniem tej hipotezy.

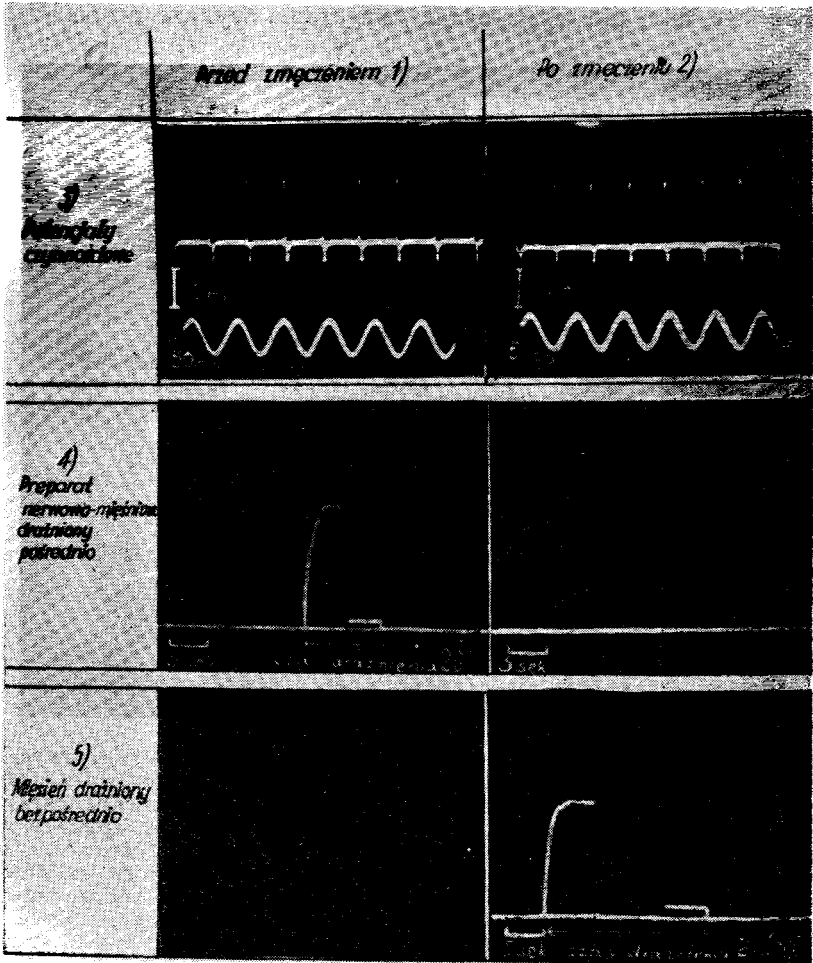
METODYKA

Doświadczenia wykonywano na preparatach nerwowo-mięśniowych żab wodnych (*Rana esculenta*) i żab płowych (*Rana temporaria*). Preparaty przygotowywano sposobem podanym przez ScheminzkY'ego. Nerwy drażniono prądem indukcyjnym o napięciu 4 V i częstotliwości 100 sek⁻¹. Preparaty znajdowały się w naczynkach prostokątnych ze szkła „Plexi”, posiadających w połowie przegrodę. W przegrodzie znajdował się otworek, przez który przeciągano nerw preparatu. Przedział, w którym znajdował się drażniony nerw wypełniano olejem parafinowym, który chronił nerw przed wysychaniem. Drugą część naczynka, w której znajdował się połączony z miografem mięsień, napełniano płynem Ringer'a. Potencjały czynnościowe odprowadzano elektrodami Ag/AgCl. Urządzenie rejestrujące składało się z przedwzmacniacza Cossor 1440 i oscylografu Cossor 1049. Zawartość acetylocholinY oznaczano biologicznie na mięśniu prostym brzucha żaby, w sposób opisany dokładnie w innej pracy [15].

WYNIKI

Zgodnie ze współczesnymi poglądami na powstawanie i udział acetylocholinY w czynnościach neuronu ruchowego sprawa przedstawia się następująco: Acetylocholina wytwarzana jest w neuronie przez enzym acetylazę cholinową, zlokalizowaną głównie we frakcji drobnoziarnistej (mikrosomalnej) [13]. Zarówno enzym (Hebb — ustna informacja) jak i pro-

dukowana przezeń acetylocholina [21] spływają wzdłuż aksonu do zakończeń nerwowych. Przypuszcza się [3], że wytworzona acetylocholina magazynuje się w postaci pęcherzyków w zakończeniach nerwowych, skąd



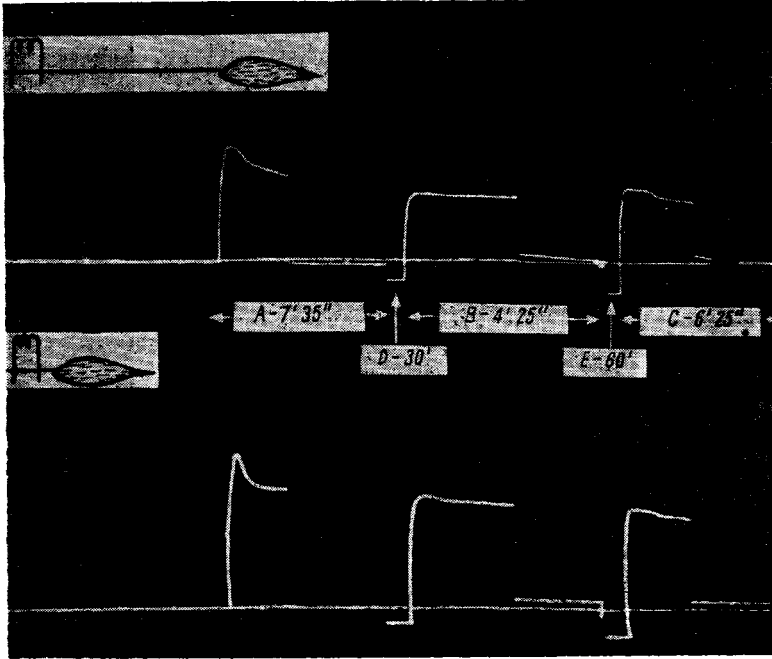
Ryc. 1. Potencjały czynnościowe nerwu kulszowego i skurcz tężcowy mięśnia łydkowego przed i po zmęczeniu preparatu nerwowo-mięśniowego.

Fig. 1. Action potentials of the sciatic nerve and tetanic spasm of the gastrocnemius before and after fatigue of the myoneural preparation. Before fatigue 1); After fatigue 2); Action potentials 3); Myoneural preparation stimulated indirectly 4); Muscle stimulated directly 5).

w momencie dojścia pobudzenia do zakończeń, zostaje synchronicznie wydzielana z większej liczby (około 50) jednostek subcelularnych zakończenia [9].

Cały akson zawiera pewien zapas acetylochliny, który w następstwie drażnienia może ulec zmniejszeniu dochodzącemu średnio do 50% zawar-

tości początkowej [2]. Gdyby, jak postuluje hipoteza Zawadzkiego, zapas acetylocholino w aksonie, był czynnikiem ograniczającym odporność synapsy na zmęczenie, to drażniąc w jednakowy sposób dwa preparaty nerwowo-mięśniowe, o nerwach różniących się znacznie długością, należałoby oczekiwać, że jako pierwszy, oznaki zmęczenia wykaże preparat z kró-



Ryc. 2. Przebieg krzywej zmęczenia dwóch preparatów nerwowo-mięśniowych o nerwach różnej długości. Drażniono prądem indukcyjnym o częstotliwości 100 sek.⁻¹ i nap. 6 V. A, B i C — okresy drażnienia, D i E — przerwy w drażnieniu. Okresy drażnienia i przerwy identyczne dla obydwóch preparatów. Po lewej stronie zapisu pokazano miejsca przyłożenia elektrod do nerwu. W przypadku dłuższego nerwu wynik doświadczenia był jednakowy bez względu na to czy elektrody znajdowały się w miejscu pokazanym na rycinie czy też znajdowały się w pobliżu mięśnia.

Fig. 2. Fatigue curves of two myoneural preparations differing in nerve length. Stimulation with induced current, 6 V, frequency 100 sec.⁻¹ A, B and C, stimulation time; D and E, pauses in stimulation. Stimulation time and pauses were for either preparation of the same durations. On the left side of the tracings are shown the points where the electrodes were applied to the nerve. In the case of the longer nerve the results were unaffected by whether the electrodes were applied as shown in the Fig. or near the muscle.

szym nerwem, jako zawierający mniejszy zapas acetylocholino. Wykonano odpowiednie doświadczenie. Stosunek długości nerwów wynosił 1:6. Wynik jednego z doświadczeń pokazano na ryc. 2. Okazało się, że obydwa preparaty męczą się w jednakowym czasie. Oznacza to, że zapas acetylocholino w aksonie nie może być czynnikiem określającym moment wystąpienia zmęczenia w synapsie.

W dalszym ciągu chcieliśmy się dowiedzieć, o ile zmniejsza się zawartość acetylocholiny w drażnionym nerwie do momentu, gdy preparat znacznie wykazywać oznaki zmęczenia. Wiedząc o tym, że zawartość acetylocholiny w obydwu nerwach kulszowych tego samego zwierzęcia jest jednakowa [2] mogliśmy, drażniąc jeden z nerwów aż do chwili ustania skurczów mięśnia, stwierdzić przez porównanie z drugim nerwem, o ile zmniejszyła się w nim zawartość acetylocholiny. Wykonano 10 tego rodzaju doświadczeń i stwierdzono, że zawartość acetylocholiny spada do krytycznego momentu przeciętnie tylko o 28%. Te doświadczenia również wskazują na to, że jest rzeczą mało prawdopodobną, aby wyczerpywanie się acetylocholiny w nerwie było w normalnych warunkach czynnikiem określającym odporność synapsy na zmęczenie. W wyjątkowych wypadkach, gdy synteza acetylocholiny w neuronie ulegnie upośledzeniu wskutek anoksji, wówczas wyczerpanie się tej substancji może zadecydować o bloku synaptycznym (*Hebb* — ustna informacja).

Nowe światło na zagadnienie zmęczenia w synapsie nerwowo-mięśniowej rzucają wyniki badań *Krnjevica* i *Miledi* [16]. Jak wiadomo rola acetylocholiny w synapsie polega na depolaryzowaniu płytki końcowej. Gdy acetylocholina połączy się z substancją recepcyjną i zdepolaryzuje płytkę końcową o wartość progową, tzn. o około 40 mV [8], wówczas zachodzi całkowita depolaryzacja i odwrócenie polaryzacji płytki czyli powstaje potencjał płytki końcowej. Wymienieni autorzy zauważyli, że długotrwałe drażnienie nerwu preparatu nerwowo-mięśniowego przepony szczura powoduje zmniejszenie się potencjałów płytki końcowej do tego stopnia, że przestają się one rozchodzić na mięsień. Jeśli, jak to zrobili *Krnjevic* i *Miledi* (l. c.), wprowadza się mikropipetą acetylocholinę w okolice płytki końcowej w porcjach odpowiadających ilościom tej substancji wydzielanych normalnie przez zakończenie nerwowe, to po kilkunastu sekundach działania na płytkę takimi sztucznymi impulsami, można zauważyć wyraźne zmniejszenie się potencjałów płytki i wreszcie całkowite ich ustanie. Oznacza to, że wskutek długotrwałej czynności powstają w płytce końcowej zmiany fizyko-chemiczne, w następstwie których zmniejsza się jej wrażliwość na acetylocholinę. Płytkę końcową przestaje oddziaływać w prawidłowy sposób na acetylocholinę i w ten sposób przenoszenie synaptyczne ustaje. Należy dodać, że nawet w okresie całkowitej niewrażliwości płytki na wstrzykiwaną acetylocholinę można w niej zauważyć potencjały miniaturowe [10, 16] wywoływane asynchronicznym wydzielaniem pakietów drobin acetylocholiny z jednostek subcelularnych zakończenia nerwowego. Ten fakt wskazuje na to, że za przyczynę zmęczenia w synapsie nerwowo-mięśniowej nie można uważać zaburzeń w aktywności esterazy cholinowej, gdyż nagromadzenie większych ilości acetylocholiny w synapsie spowo-

dawałoby trwałą depolaryzację płytki końcowej i uniemożliwiło w ogóle pojawienie się na niej jakichkolwiek zjawisk elektrycznych.

Podsumowując, należy stwierdzić, że według wszelkiego prawdopodobieństwa elementem synapsy, którego w pierwszym rzędzie dotyczy zmęczenie jest płytka końcowa. Ponieważ na płycie końcowej zachodzi zjawisko transformacji reakcji chemicznej (łączenie się przenośnika z substancją recepcyjną) na zjawisko fizyczne (powstanie potencjału czynnościowego płytki końcowej) dlatego można tę część włókna mięśniowego uważać za model chemoreceptora. Dalsze badania nad tą strukturą pozwolą nie tylko ustalić biofizyczne podłoże zjawiska zmęczenia, ale mogą dostarczyć również ciekawych danych o sposobie działania chemoreceptorów.

WNIOSKI

1. Częścią preparatu nerwowo-mięśniowego męczącą się najwcześniej jest synapsa.

2. Zmęczenia w synapsie nerwowo-mięśniowej nie można przypisywać wyczerpywaniu się zapasu acetylocholinę w nerwie.

3. Zniesienie przenoszenia w synapsie nerwowo-mięśniowej w następstwie zmęczenia synapsy jest najprawdopodobniej spowodowane zmianami fizyko-chemicznymi płytki końcowej, wskutek których płytka przestaje oddziaływać na wydzielaną w czasie pobudzenia z zakończeń nerwowych acetylocholinę.

M. Krause, Z. Stęplewski

ОБ УТОМЛЕНИИ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ СИНАПСЕ

Содержание

Работа имела своей целью проверить гипотезу по вопросу о том является ли исчерпание запаса ацетилхолина в нерве главным фактором определяющим момент выступления утомления в синапсе нервно-мышечного препарата.

Опыты, проведенные на нервно-мышечных препаратах лягушки, разнящихся глиной нерва и тем самым содержащих неодинаковые количества ацетилхолина, показывают, что утомление выступает в обоих препаратах в одинаковое время с момента раздражения.

Из проведенных опытов видно, что экспериментальные данные не подтверждают этой гипотезы. На основании выполненных работ и данных литературы можно считать что элементом нервно-мышечного синапса, менее всего устойчивым на утомление, является концевая пластинка.

M. Krause, Z. Steplewski

Summary

FATIGUE IN THE NEURO-MUSCULAR JUNCTION

The hypothesis has been tested whether the exhaustion of acetylcholine within the nerve can be considered as the decisive factor, which determines synaptic transmission failure caused by fatigue. If frog nerve-muscle preparations having nerves of different lengths i. e. containing unequal stocks of acetylcholine are stimulated indirectly, synaptic failure develops in both preparations within the same period of time. These results show that there is no causal relation between the stock of acetylcholine within the nerve and its resistance to fatigue. Our results along with data from other sources, indicate that in all probability the muscle end plate must be considered as the structure most sensitive to fatigue.

PIŚMIENNICTWO

1. Bernstein J.: Arch. f. d. ges. Physiol. 1877, 15, 289
2. Bieżański W.: Acta Physiol. Pol. 1952, 3, 247
3. Birks R. J., Mac Intosh F. C.: Brit. Med. Bull. 1957, 13, 3.
4. Bowditch H.: J. Physiol. 1885, 6, 133.
5. Brown G. L., Burns B. D.: Proc. Roy. Soc. Ser. B. 1949, 136, 182.
6. del Castillo J., Katz B.: J. Physiol. 1954, 123, 7P.
7. del Castillo J., Katz B.: J. Physiol. 1955, 128, 157.
8. Fatt P., Katz B.: Proc. Roy. Soc. Ser. B. 1952, 140, 183.
9. Fatt P.: Physiol. Rev. 1954, 34, 674.
10. Fatt P., Katz B.: J. Physiol. 1952, 117, 109.
11. Field H., von Brücke E. T.: Pflüg. Arch. 1926, 214, 103.
12. Gasser H. S.: J. Neurophysiol. 1939, 2, 361.
13. Hebb C. O., Krause M., Silver A.: J. Physiol. 1959, 148, 60P.
14. Katz B.: Bull. of J. Hopk. Hosp. 1958, 102, 275.
15. Krause M.: Acta Physiol. Pol. 1955, 6, 33.
16. Krnjevic K., Miledi R.: J. Physiol. 1958, 140, 440.
17. Krnjevic K., Miledi R.: J. Physiol. 1959, 149, 1.
18. Lovatt Evans C.: Principles of human physiology, London 1949.
19. Scheminzky F.: Physiologisches Praktikum, Wien 1947.
20. Wwiedeński N. E.: Fizjologija Nierwnoj Sistemy T. II., Medgiz 1952.
21. Zawadzki B.: Acta Physiol. Pol. 1955, 6, 15.

Otrzymano: 10. V. 1960.

Adres autorów: Zabrze-Rokitnica, ul. Karola Marksa 19, Śląska A. M.