



ЖУРНАЛ

*Гродненского государственного
медицинского университета*

1 (21)

ежеквартальный научно-практический журнал

Основан 27 ноября 2002 года (рег. удост. № 1953 от 27.11.2002 г.)

Главный редактор Гарелик П.В.

Редакционная коллегия:

Ответственный секретарь Пац Н.В.

Батвинков Н.И., Бушма М.И., Глаз А.В., Гордеев Я.Я., Егорова Т.Ю., Жук И.Г.,
Зиматкин С.М., Кондратьев Д.К., Королева Е.Г., Лелевич В.В., Лис М.А.,
Лукашик Н.К., Мойсеенок А.Г., Околоулак Е.С., Пирогова Л.А., Смотрин С.М.,
Снежицкий В.А., Солодков А.П., Цыркунов В.М., Шейбак В.М.

Редакционный совет:

Зам. главного редактора Жмакин А.И.
Редактор Мельникова А.А.
Вильчук К.У., Воробьев В.В., Зинчук В.В.,
Мармыш Г.Г., Шамова Т.М.

*Гродно
2008*

В номере

ЛЕКЦИИ И ОБЗОРЫ

Папилломавирусы человека: строение, роль в онкогенезе, а также механизмы противовирусного иммунитета М.Г. Зубрицкий, О.В. Андреева, М.И. Якопцевич, Е.А. Кураанский, И.Г. Зубрицкая, С.Н. Друтько	3	Использование методики «минимизации затрат» для оптимизации амбулаторного лечения артериальной гипертензии антагонистами кальция В.П. Вдовиченко, Т.А. Коршак, Г.М. Бронская, В.В. Сидорук, М.М. Чирко	80
Хроническая ишемия головного мозга (обзор литературы) Г.М. Авдей, С.Д. Кулеш, М.С. Шумская	6	Дистальные ампутации стопы при хронической артериальной недостаточности нижних конечностей С.М. Смотрич, А.Г. Кузнецов	84
Значение гиперомоцистеинемии в развитии заболеваний артериальных сосудов и сердца А.В. Пырошкин	10	Медико-социальные проблемы ампутаций нижних конечностей у больных облитерирующим атеросклерозом артерий подздошно-бедренно-подколенно-берцового сегмента Н.Н. Иоскевич, В.Н. Чмель	88
Аминокислоты в лечении билиарной патологии (обзор литературы) И.И. Климович, Е.М. Дорошенко, В.П. Стралко, В.Ю. Смирнов	14	Доброчастная гиперплазия предстательной железы: современный подход к медикаментозной терапии В.А. Филиппович	93
Ферментативный катализ (лекция по общей химии) И.П. Черникевич	21	Методология исследования и оценки социальной эффективности системы здравоохранения (на примере охраны репродуктивного здоровья молодежи) М.Ю. Сурмач, Е.М. Тищенко	102
Роль нейтрофилов, лимфоцитов, клеток ИТО, купферовских, дендритных и синусоидальных эндотелиальных клеток в печени М.В. Горецкая	28	Рождаемость и смертность населения Гродненской области в первый год реализации программ демографической безопасности Ч.И. Господарец, А.В. Солодовников, Е.М. Тищенко	107
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ		Структурно-функциональные особенности колленного сустава Ю.М. Киселевский, А.В. Иванцов	109
Хеликобактерная инфекция и состояние эндотелийзависимой вазодилатации у детей с хронической астродуоденальной патологией Т.В. Мацюк, К.У. Вильчук, Г.В. Гук, О.Г. Слизович	35	Особенности изменения микроэлементного состава мочи и биохимических показателей крови у детей с дисмикрозлементозом при коррекции их питания <i>spigulina taxita</i> Н.В. Пац	113
Морфологическая оценка метастатического потенциала рака предстательной железы А.К. Гриб, С.А. Ляпиков, В.А. Басинский, С.Э. Савицкий	39	ПРАКТИКУЮЩЕМУ ВРАЧУ	
Показатели иммунорезистентности и эндогенной интоксикации у больных туберкулезом при развитии побочных реакций на полихимиотерапию С.Б. Вольф	44	Изменения в терминологии и новое определение инфаркта миокарда В.А. Снежицкий	116
Состояние тревожности, как проявление эмоционального стресса у больных с патологией печени А.В. Васильев, В.С. Васильев, М.И. Боауцкий, В.М. Цыркунов, М.Н. Дразун	49	СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ	
Общая смертность и острые алкогольные отравления в России в 1956-2005 годы Ю.Е. Разведоский	53	Наружный несформированный свищ желудка, как осложнение острого панкреатита А.И. Ославский, Н.И. Батвинков, К.Н. Жандаров, В.А. Мицкевич, А.В. Кухта, А.В. Шарко	118
Анализ тенденций заболеваемости цереброваскулярными болезнями жителей Гродненской области в 2001-2005 годы С.Д. Кулеш, М.С. Шумская, А.В. Григелевич, С.А. Гришкевич, А.В. Костусева	58	Особый случай мигренозной болезни В.П. Водоевич, В.В. Гнядо	120
Изменения в распределении нейронов, содержащих синтазу NO в гипоталамусе и продолговатом мозге в постнатальном онтогенезе у зрелорождающихся млекопитающих В.И. Дунай	62	Случай выявления сложных нарушений ритма сердца и проводимости у больного с гипоплазией правой коронарной артерии В.А. Снежицкий, Т.С. Долгошей, Т.Г. Лискович, Е.А. Снежицкая	122
Показатели фолат-зависимости метаболизма и элементов антиоксидантной защиты у больных с перенесенным инфарктом миокарда А.В. Пырошкин, А.Г. Мойсенок	65	Случай синдрома фелти - редкой формы ревматоидного артрита В.П. Водоевич, Т.В. Прокопович	124
Суточные показатели артериального давления у больных почечной артериальной гипертензией и влияние на них β -блокатора третьего поколения небиволола (небилета) А.М. Жигальцов	68	УЧЕБНЫЙ ПРОЦЕСС	
Особенности применения клопидогреля у больных с острым коронарным синдромом В.А. Снежицкий	72	Изучение мотивации выбора профессии и уровня адаптированности к учебному процессу у первокурсников О.Г. Курчевская, И.Г. Жук, Е.М. Тищенко	126
Фармакоэпидемиологические и фармакоэкономические данные, касающиеся применения бета-адреноблокаторов у амбулаторных больных с артериальной гипертензией В.П. Вдовиченко, Г.М. Бронская, Т.А. Коршак, Р.М. Салмин, М.В. Качук, Е.С. Грузан	76	Инновационный подход к обучению иностранным языкам Д.К. Кондратьев, Л.Н. Гущина	128
		ПАМЯТНЫЕ ДАТЫ	
		Геннадий Алексеевич Обухов - ученый, врач, преподаватель, основатель психиатрической службы Гродненской области В.А. Карпюк, С.Л. Дудук	131
		Организация государственного контроля аптечного дела во 2-й Речи Посполитой Польши Катажина Ханиш	134
		Жизнь как бесконечное стремление к познанию (к 80-летию И.Ф. Мирончика) С.Л. Дудук	139

УДК 611.814.1:575.332)-092.9

ИЗМЕНЕНИЯ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ НЕЙРОНОВ, СОДЕРЖАЩИХ СИНТАЗУ NO В ГИПОТАЛАМУСЕ И ПРОДОЛГОВАТОМ МОЗГЕ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ У ЗРЕЛОРОЖДАЮЩИХСЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В.И. Дунай, К.Б.Н.

Кафедра психофизиологии гуманитарного факультета
УО «Белорусский государственный университет»

Установлено, что у морских свинок к двадцатому дню постнатального развития формируются основные черты в распределении предполагаемых NO-синтезирующих нервных клеток, характерные для взрослого организма.

Ключевые слова: онтогенез, NO-синтаза, гипоталамус.

It has been found out that in guinea-pigs the basic features in the distribution of probable NO-synthesizing nerve cells have been formed by the twentieth day of the postnatal development. These features are typical of the adult organism.

Keywords: ontogenesis, NO-synthesis, hypothalamus.

Оксид азота (NO) является одним из наиболее важных биологических медиаторов, который вовлечен во множество физиологических и патофизиологических процессов. Он представляет собой уникальный по своей природе и механизмам действия вторичный мессенджер в большинстве клеток организма. В частности, оксид азота участвует в реализации многих физиологических функций, таких как вазодилатация, нейротрансмиссия, снижение агрегации тромбоцитов, реакции иммунной системы, регуляция тонуса гладких мышц, состояние памяти и др., а также некоторых патологических процессов [1-4]. В организме NO синтезируется клетками из аминокислоты L-аргинин [5, 6]. Этот процесс представляет собой комплексную окислительную реакцию, катализируемую ферментом синтазой NO (CNO), которая присоединяет молекулярный кислород к конечному атому азота в гуанидиновой группе L-аргинина.

Данные литературы свидетельствуют, что NO-синтезирующие нейроны широко распространены в ЦНС млекопитающих [7]. Имеются предположения о том, что NO может являться одним из важнейших факторов, участвующих в развитии структуры и функции центральной нервной системы, являясь молекулой, вызывающей гибель определенных клеточных структур, а также играя важную роль в механизмах роста нервных окончаний и формирования синапсов [8]. Получены доказательства участия NO в центральных механизмах терморегуляции при перегревании и экспериментальной лихорадке [9].

Несмотря на обилие фактов, свидетельствующих об участии NO в регуляции различных физио-

логических функций, а также в развитии центральной нервной системы, становление центральных NO-ергических систем в онтогенезе остается совершенно неизученным.

Целью данной работы явилось изучение созревания NO-ергических систем мозга в раннем постнатальном онтогенезе у морских свинок, как представителей зрелорождающихся млекопитающих.

Материалы и методы исследования.

Эксперименты выполнены на 32 морских свинках. Первая группа – животные в возрасте 1 дня, вторая группа – в возрасте 3 дней, третья группа – в возрасте 10 дней, четвертая – в возрасте 20 дней.

Специальными исследованиями было доказано, что нейронная синтаза NO является никотинамидадениндинуклеотидфосфат-диафоразой (НАДФН-д) [10]. Во-первых, локализация в центральной и периферической нервной системе НАДФН-д-содержащих нейронов, окрашенных гистохимически, соответствует локализации нервных клеток, содержащих CNO, окрашенных с применением методов иммуногистохимии. Во-вторых, CNO и НАДФН-д обнаруживают сходные иммунохимические и биохимические свойства. В-третьих, НАДФН-д активность выявляется *de novo* у клеток с трансформированной кДНК к CNO. Использование гистохимической реакции для идентификации CNO-содержащих нейронов возможно только при условии, что исследуемая ткань проходит фиксацию в параформальдегиде. Установлено [10], что при фиксации с использованием параформальдегида инактивируются все НАДФН-зависимые ферменты-окислители, за исключением CNO. Таким об-

разом, при условии фиксации ткани в параформальдегиде, использование гистохимической реакции на НАДФН-д для идентификации NO-синтезирующих нервных клеток является адекватным методом и широко используется в настоящее время.

В работе использован метод идентификации НАДФН-д-содержащих нейронов, разработанный Scherer-Singler et al. [11], в модификации Норе и Vincent [12].

Для выделения гипоталамуса у животных целиком извлекали головной мозг. Отделяли гипоталамус и продолговатый мозг и дополнительно фиксировали, согласно рекомендации Matsumoto et al. [13] 90 минут в 4% параформальдегиде на фосфатном буфере (0.1M, pH 7.4). Участки мозга шесть раз по 30 мин. отмывали на холоде с использованием 0,1 M раствора Трис-НСI (pH 8,0) и инкубировали в 10% и 25% растворах сахарозы на Трис-НСI (0,1M, pH8,0) в течение 1,5 и 12 часов, соответственно.

Объекты помещали на охлажденные металлические блоки, которые ставили в криостат (-25°C) на 20 минут для замораживания. Из замороженной ткани готовили серийные срезы толщиной 25 мкм, которые наклеивали на предметные стекла, предварительно подвергшиеся хром-желатиновой обработке, и высушивали.

Срезы отмывали от сахарозы в 0,1 M растворе Трис-НСI (pH 8.0) в течение 5 мин. Гистохимическая процедура заключалась в инкубации срезов в растворе 0,1 M Трис-НСI (pH 8,0), содержащем НАДФН (1 mM), нитросиний тетразолий (0.5 mM), Тритон X-100 (0,3 %) и дикумарол (0,1mM) на протяжении 1-2 ч. при 22°C и относительной влажности 95-100 %. По окончании гистохимической реакции срезы промывали в растворе Трис-НСI в течение 5 минут, обезживали в этаноле, заключали в канадский бальзам и накрывали покровными стеклами.

Специфичность гистохимической реакции проверялась инкубацией нескольких срезов в растворах, не содержащих нитросиний тетразолий или НАДФН, а также в растворе, содержащем НАДФ вместо НАДФН. Химическая основа реакции заключается в образовании преципитата формаза при восстановлении солей тетразолия НАДФН-диафоразой в присутствии НАДФН. Таким образом, гистохимическая реакция не должна наблюдаться в случае отсутствия в инкубационной среде любого из основных компонентов (нитросиний тетразолий, НАДФН), а также в случае использования НАДФ вместо НАДФН.

Результаты

Опыты показали, что у морских свинок в первые дни после рождения в гипоталамической об-

ласти происходят значительные изменения в распределении нервных клеток, содержащих НАДФН-д/CNO (таблица).

Таблица. Распределение нервных клеток, содержащих НАДФН-д/CNO, в структурах гипоталамуса у морских свинок в разные сроки постнатального онтогенеза

№ п/п	Структура	1 день	3 день	10 день	20 день
1.	Medial preoptic area	-	+	+	+
2.	Lateral preoptic area	+	+	+	+
3.	Supraoptic nucleus	-	-	-	+
4.	Paraventricular nucleus	+	+	+	+
5.	Periventricular nucleus	-	-	+	+
6.	Lateral hypothalamic area	+	+	+	+
7.	Medial mammillary nucleus	-	+	+	+
8.	Supramammillary nucleus	+	+	+	+

«+» - структура содержит НАДФН-д/CNO-позитивные нервные клетки;

«-» - структура не содержит НАДФН-д/CNO-позитивные нервные клетки.

При изучении серийных срезов гипоталамуса морских свинок в возрасте одного дня после рождения обнаружены НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны в латеральной преоптической области, паравентрикулярном ядре, латеральной гипоталамической области и в супрамаммилярном ядре.

У морских свинок в возрасте одного дня после рождения не обнаружены НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны в ряде структур гипоталамуса, содержащих такие нейроны у взрослых организмов. Так, не обнаружены НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны в медиальной преоптической области, супраоптическом ядре, перивентрикулярном ядре и медиальном маммилярном ядре.

У морских свинок в возрасте трех дней после рождения так же, как и у однодневных морских свинок, гипоталамус не содержит НАДФН-д/CNO-позитивных нейронов в супраоптическом ядре и перивентрикулярном ядре.

Гипоталамическая область трехдневных морских свинок содержит НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны в тех же структурах, что и у однодневных (в латеральной преоптической области, паравентрикулярном ядре, латеральной гипоталамической области и в супрамаммилярном ядре). Кроме того, названные нейроны обнаружены в медиальной преоптической области и медиальном маммилярном ядре.

В период между третьим и десятым днем формируются основные черты в распределении НАДФН-д/CNO-позитивных нейронов гипоталамической области, характерные для взрослого организма.

Так, у десятидневных морских свинок выявляются НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны почти во всех структурах гипоталамуса, содержащих такие нервные клетки у взрослых животных. В отличие от третьего дня, к 10-му дню развития НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны появляются в перивентрикулярном ядре. Обнаружено, что ги-

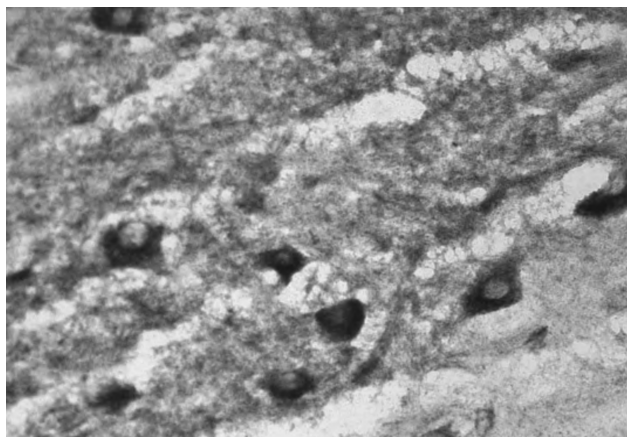


Рисунок – НАДФН-д-позитивные нервные клетки в переднем гипоталамусе морской свинки. Микрофото (x100)

поталамус десятидневного животного не содержит НАДФН-д/CNO-позитивных клеток в супраоптическом ядре.

Крупные, интенсивно окрашенные НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны появляются в супраоптическом ядре в период между десятым и двадцатым днем после рождения. Таким образом, не существует различий в распределении НАДФН-д/CNO-позитивных нейронов в гипоталамусе 20-дневного животного по сравнению с взрослыми животными (рисунок).

Полученные данные свидетельствуют о том, что, по-видимому, между десятым и двадцатым днем после рождения происходит окончательное структурное формирование NO-зависимых систем нервных центров гипоталамуса морских свинок.

При изучении серийных срезов продолговатого мозга, окрашенных на НАДФН-д, у морских свинок в разные сроки после рождения, НАДФН-д/CNO-позитивные нервные клетки обнаружены во всех изучаемых структурах.

По-видимому, еще до рождения завершается формирование NO-зависимых систем нервных центров продолговатого мозга, структурное и функциональное развитие которых должно обеспечивать в первые дни жизни важнейшие вегетативные функции (дыхание, кровообращение).

Обсуждение результатов

В ходе выполненных экспериментов установлено, что в первые дни после рождения у морских свинок в гипоталамической области происходят значительные изменения в распределении НАДФН-д/CNO-позитивных нервных клеток. Полученные данные свидетельствуют о том, что, по-видимому, между десятым и двадцатым днем после рождения происходит окончательное структурное формирование NO-зависимых систем нервных центров гипоталамуса зрелорождающихся млекопитающих.

Литература

1. Lowenstein C.J., Dinerman J.L., Snyder S.H. Nitric oxide: a physiologic messengers. *Ann. intern.Med.* – 1994. – Vol. 120. – P. 227-237.
2. Moncada S., Higgs A. Mechanisms of disease: the L-arginine - nitric oxide pathway. *New Engl.J.Med.* – 1993. – Vol. 329. – P. 2002-2012.
3. Nakaki T. Physiological and clinical significance of NO (nitric oxide) - a review. *Keio J.Med.* – 1994. – Vol. 43. – P. 15-26.
4. Snyder S.H. Janus faces of nitric oxide. *Nature.* – 1993. – Vol. 364. – P. 577.
5. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* – 1992. – Vol. 6. – P. 3051-3064.
6. Wang Y., Marsden P.A. Nitric oxide synthases: biochemical and molecular regulation. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens.* – 1995. – Vol. 4. – P. 12-22.
7. Dawson T. M., Hwang P. M., Snyder S. H. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues// *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1991. – Vol. 88, N.17. – P. 7797-7801.
8. Gourine A. V. Role of nitric oxide in lipopolysaccharide-induced fever in conscious rabbits// *J.Physiol.* – 1994. – Vol. 475. – P.28.
9. Dunai V. I., Gourine A. V. Effect of the NO synthase inhibitor, L-NAME, on body temperature in birds in different periods of postnatal ontogenesis// *Recent advances in thermal biology.* Edited by V. N. Gourine. –Minsk.–1999. – P.18-19.
10. Pasqualotto B. A., Hope B. T., Vincent S. R. Citrulline in the rat brain - immunohistochemistry and coexistence with NADPH-diaphorase// *Neurosci.Lett.* –1991. – Vol. 128, N.2. – P. 155-160.
11. Scherer-Singler U., Vincent S. R., Kimura H., McGeer E. G. Demonstration of a unique population of neurons with NADPH-diaphorase histochemistry// *J.Neurosci.Methods.*–1983.–Vol.9,N.3.– P.229-234.
12. Hope B. T., Vincent S.R. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase // *J.Histochem.Cytochem.*–1989. – Vol.37. – P.653-661.
13. Matsumoto T., Kuk J. E., Forstermann U. A correlation between soluble brain nitric oxide synthase and NADPH-diaphorase activity is only seen after exposure of the tissue to fixative// *Neurosci.Lett.* – 1993. – Vol. 155, N.1. – P. 61-64.

Поступила 27.08.07