

8. Muradjanc A.A., Berezenko M.N. Fractures related to osteoporosis in elderly and senile age: prevention and management tactics, *Klinicist*. 2007. No. 1. V. 63–66.
9. Mjuller M.E., Al'govver M., Shnejder Z., Villinger H. The guidance on internal osteosynthesis, per. s nem. M.: Springer-Verlag, 1996. 750 p.
10. Rodionova S.S., Makarov M.A. The value of bone mineral density and bone quality in providing its strength in osteoporosis, *Vestnik travmatologii i ortopedii*. 2001. No. 2. P. 76–80.
11. Christain C.A. Campbell Operative Orthopaedics. 9th Edition. St. Louis, MO: Mosby Publishers, 1998. P. 2000–2001.
12. Goldman R.T., Koval K.G., Cuomo F. et al. Functional outcome after humeral head replacement for acute three- and four-part proximal humeral fractures, *J. Shoulder Elbow. Surg.* 1995. No. 4. P. 81–86.
13. Giannoudis P., Tzioupis C., Almalki T., Buckley R. Fracture healing in osteoporotic fractures: Is it really different? A basic science perspective, *Injury*. 2007. Vol. 38, Suppl 1. P. S90–S99.
14. Ring D. Current concepts in plate and screw fixation of osteoporotic proximal humerus fractures, *Injury*. 2007. Vol. 38. Suppl. 3. P. S59–S68.

Поступила в редакцию 02.04.2012.

COMPARING TREATMENT RESULTS OF THE AGED PATIENTS WITH PROXIMAL HUMERUS FRACTURES

E.P. Kostiv, R.E. Kostiv, E.V. Tikhonova, E.E. Kostiva

Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russia)

Summary – The paper provides the comparative assessment of treatment results in 171 aged patients with proximal humerus fractures. 102 cases required performing internal locking osteosynthesis. There were 69 cases of conservative treatment. The follow-up carried out in 6–18 months confirmed that the functional results of the surgical procedures have been superior to those of the conservative treatment. Therefore, the internal locking osteosynthesis did not ensure spontaneous recovery of the function of the injured limb. The early rehabilitation of patients is of great importance, first of all. In case of the fracture surgery, the angle stable plates are a method of choice. Some cases of the C type fractures require primary replacement of the shoulder joint.

Key words: osteoporosis, humerus fractures, internal locking osteosynthesis, angle stable plates.

Pacific Medical Journal, 2012, No. 3, p. 70–74.

УДК 612.828:616.8-091.81

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА NADPH-ПОЗИТИВНЫХ НЕЙРОНОВ В ЯДРАХ ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА И КРЫСЫ

М.С. Старцева, Т.А. Шуматова, Л.Д. Маркина, Мотавкин П.А.

Владивостокский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Ключевые слова: NADPH-диафороза, нитроксидергические нейроны, оксид азота, продолговатый мозг.

Исследовали 7 ядер продолговатого мозга у человека и крысы, в которых выделено четыре типа нейронов, отличающихся интенсивностью реакции на NADPH-диафору. Показано, что у человека и крысы в большинстве ядер наблюдаются сходные закономерности распределения нитроксидпозитивных нейронов: в двигательных ядрах преобладают нейроны с высокой, а в чувствительных – с низкой активностью NADPH-диафоразы.

Нитроксидергический путь передачи нервного импульса до настоящего времени вызывает противоречивые оценки. Противоречия касаются как наличия и количественного распределения фермента синтеза оксида азота в нервных центрах, его активности в отдельных нейронах, так и неоднозначной физиологической роли этой молекулы в обеспечении работы центральной нервной системы, в том числе в регуляции артериального давления [1, 2, 4, 9]. И хотя активное участие оксида азота в реализации функций продолговатого мозга признается многими исследователями [6, 12, 15], данные о локализации и количественном распределении нитроксидергических нейронов (NADPH-нейронов) в его ядрах у человека ограничиваются 2–3 попутными и противоречивыми сообщениями.

В настоящей работе исследовано распределение активности NADPH-диафоразы в нитроксидергических нейронах некоторых ядер продолговатого мозга у человека и крысы.

Старцева Марина Сергеевна – ассистент кафедры физики и математики ВГМУ; e-mail: startsevams@mail.ru

Материал и методы. Работа выполнена на материале от 5 человек в возрасте 21–25 лет, погибших от причин, не связанных с повреждением мозга, и от 28 белых беспородных крыс массой 180–200 г, содержавшихся в условиях лабораторного вивария на стандартном рационе.

Из продолговатого мозга делали срезы с двух уровней, позволявших наиболее полно микроскопировать и изучать ядра. Препараты исследовали отдельно в двух микроскопах, в окуляры которых помещали одинаковые сетки с равновеликими квадратами. Изучаемое ядро в обоих микроскопах ориентировали по характерным признакам в сагиттальной и фронтальной плоскостях. Исследовали дорсомедиальную часть ядра солитарного тракта, дорсальное ядро блуждающего нерва, а также ретикулярные ядра – латеральное, околосрединное, гигантоклеточное, центральное и мелкоклеточное.

Срезы обрабатывали по методу V. Hope и S. Vinsent [8]. Специфичность гистохимической реакции проверялась их инкубацией в растворах, не содержащих нитросиний тетразолий или NADPH, а также в растворе, содержащем NADP вместо NADPH. Реакция на NADPH-диафорузу предоставляет возможность идентифицировать нитроксидсинтазу в нейронах и определить количественное соотношение клеток, отличающихся активностью фермента [4, 6, 8]. Плотность осадка диаформазана пропорциональна молекулярному содержанию нитроксидсинтазы, что позволяет судить об активности фермента [14]. В каждом ядре при помощи

окраски срезов 0,5 % раствором метиленового синего по Нисслю определяли абсолютное число нейронов в проекции среза, а также долю, приходящуюся на NADPH-нейроны. Среди последних вычисляли долю клеток с низкой (I тип), средней (II тип), высокой (III тип) и очень высокой (IV тип) активностью фермента.

Количественная обработка материалов проводилась «пиксельным методом» с использованием автоматизированной системы анализа изображений Allegro MC [3]. Для оценки значимости цифровых данных использовали t-критерий Стьюдента.

Результаты исследования. Во всех описанных ядрах встречались нервные клетки, отличавшиеся структурой и плотностью осадка, в результате чего их цитоплазма окрашивалась в различные оттенки синей зоны спектра: от голубого до фиолетового.

Клетки I типа содержали мелкозернистый преципитат голубовато-синего цвета. В цитоплазме он выпадал в виде отдельных или слившихся гранул, плотность которых увеличивалась по направлению от периферии клетки к окооядерной зоне (рис., а, б). Нейроны с низкой активностью фермента составляли не менее трети от общего количества нервных клеток в ядре солитарного тракта, в ретикулярном латеральном ядре и дорсальном ядре блуждающего нерва человека (табл.).

Нейроны II типа со средней активностью NADPH-диафоразы формировали более грубый цитоплазматический осадок, сливавшийся иногда в сплошное окооядерное кольцо. Зачастую, как это видно на рисунке, над ядром и частью цитоплазмы выявлялось фиолетовое, почти гомогенное пятно преципитата в виде дугообразного скопления около ядра, а в остальной цитоплазме определялась редкая россыпь гранул. У человека и крысы такие клетки преобладают в ядре одиночного пути и ретикулярном латеральном ядре (табл.). Но особенно много нейронов II типа (более 60 %) обнаружено в дорсальном ядре блуждающего нерва крысы.

В нейронах III типа сине-фиолетовые гранулы диформаза равномерно заполняли всю цитоплазму, оставляя свободной лишь ядро (рис., а). Осадок выпадал также в длинных отростках клеток, распространявшихся в дорсомедиальном направлении. У человека и крысы клеток с высокой активностью больше всего обнаружено в ретикулярном гигантоклеточном ядре, а у крысы, кроме того, – в ретикулярных мелкоклеточном и центральном ядрах, где их доля составляла более 50 %. Меньше всего таких нейронов было в дорсальном ядре блуждающего нерва и ретикулярном латеральном ядре у человека. Относительно немного (около 10–14 %) нитроксидергических нервных клеток обнаружено в ядре одиночного пути и ретикулярном латеральном ядре.

В клетках IV типа гомогенный осадок фиолетового цвета заполнял все тело клетки, маркировал отростки, оставляя свободной только зону ядра. Такие нейроны постоянно определялись

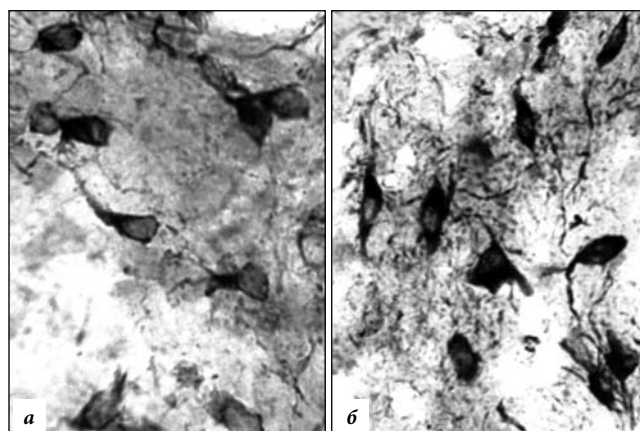


Рис. Нейроны с различной степенью активности NADPH-диафоразы:

а – ядро солитарного тракта, б – ретикулярное крупноклеточное ядро. Метод V. Hope и S. Vinsent, $\times 200$.

в вентральном гигантоклеточном и мелкоклеточном ретикулярных ядрах, ретикулярном центральном ядре, где их доля составляла около 8–12 %. В ядре одиночного пути, ретикулярном латеральном ядре, в дорсальном ядре блуждающего нерва они либо отсутствовали, либо встречались в ограниченном количестве.

Ядра содержали различное количество NADPH-нейронов: от 18,6 до 72,8 % (табл.). Там, где таких нейронов было много, они располагались достаточно плотно: это, прежде всего, ретикулярное гигантоклеточное ядро, а также ретикулярные центральное и мелкоклеточное ядра. В других ядрах (ядро одиночного пути или ретикулярное латеральное ядро) определялись немногочисленные, редкие нервные клетки, большая часть из которых обладает невысокой активностью фермента (рис., а).

Таблица

Распределение нитроксидергических нейронов в ядрах продолговатого мозга человека и крысы ($M \pm m$), %

Объект исследования*		Доля NADPH-нейронов	Доля нейронов с различной активностью NADPH-диафоразы			
			I тип	II тип	III тип	IV тип
ЯСТ	Человек	20,6 $\pm$ 4,1	32,4 $\pm$ 3,7	55,6 $\pm$ 5,8	9,6 $\pm$ 2,0	2,4 $\pm$ 0,6
	Крыса	24,4 $\pm$ 5,5	29,9 $\pm$ 2,4	59,2 $\pm$ 5,4	10,9 $\pm$ 2,0	0
ДЯБН	Человек	17,4 $\pm$ 3,1	35,2 $\pm$ 4,6	58,2 $\pm$ 5,5	6,6 $\pm$ 1,8	0
	Крыса	19,2 $\pm$ 4,6	23,2 $\pm$ 2,1	61,1 $\pm$ 3,4	14,6 $\pm$ 2,0	2,1 $\pm$ 0,8
РЛЯ	Человек	44,9 $\pm$ 3,2	9,0 $\pm$ 2,0	31,8 $\pm$ 4,1	47,9 $\pm$ 6,0	11,3 $\pm$ 3,4
	Крыса	49,4 $\pm$ 4,7	12,8 $\pm$ 2,4	33,9 $\pm$ 3,4	43,4 $\pm$ 9	9,9 $\pm$ 2,1
РГЯ	Человек	38,2 $\pm$ 6,3	14,7 $\pm$ 2,0	22,4 $\pm$ 2,2	52,6 $\pm$ 5,7	10,3 $\pm$ 2,8
	Крыса	42,8 $\pm$ 7,1	9,4 $\pm$ 1,8	20,4 $\pm$ 3,1	57,9 $\pm$ 6,4	12,3 $\pm$ 2,0
РЦЯ	Человек	39,2 $\pm$ 4,4	11,2 $\pm$ 2,3	30,4 $\pm$ 2,6	50,1 $\pm$ 5,3	8,3 $\pm$ 2,1
	Крыса	42,8 $\pm$ 7,8	10,4 $\pm$ 2,8	30,2 $\pm$ 3,5	50,5 $\pm$ 4,7	8,9 $\pm$ 3,2
РМЯ	Человек	34,4 $\pm$ 5,4	10,2 $\pm$ 2,6	28,4 $\pm$ 2,2	50,1 $\pm$ 3,3	7,8 $\pm$ 2,8
	Крыса	40,8 $\pm$ 7,8	10,4 $\pm$ 2,8	30,2 $\pm$ 3,5	50,5 $\pm$ 5,7	8,9 $\pm$ 3,2
РОЯ	Человек	38,4 $\pm$ 4,4	12,2 $\pm$ 2,7	32,4 $\pm$ 3,6	48,6 $\pm$ 4,3	6,8 $\pm$ 2,8
	Крыса	39,3 $\pm$ 5,8	11,8 $\pm$ 1,6	34,2 $\pm$ 3,3	46,1 $\pm$ 4,1	7,9 $\pm$ 3,4

* ЯСТ – ядро солитарного тракта, ДЯБН – дорсальное ядро блуждающего нерва, РЛЯ – ретикулярное латеральное ядро, РГЯ – вентральное ретикулярное гигантоклеточное ядро, РЦЯ – ретикулярное центральное ядро; РМЯ – ретикулярное мелкоклеточное ядро, РОЯ – ретикулярное околосоудинное ядро.

Обсуждение полученных данных. В ядрах продолговатого мозга постоянно определялись NADPH-нейроны. При этом у человека и крысы зарегистрированы сходные закономерности: в двигательных ядрах преобладают клетки с высокой, в чувствительных – с низкой активностью NADPH-диафоразы. На сходство в распределении NADPH-нейронов в мозге не только человека и крысы, но обезьяны и кошки обращали внимание и другие исследователи [11, 13]. Однако имеются данные, указывающие на видовые отличия в распределении NADPH-нейронов в энторинальной коре, гиппокампальной формации, таламусе, мозжечке [7].

В двигательных ядрах относительное содержание NADPH-нейронов выше, чем в чувствительных и вегетативном. В чувствительных ядрах доля таких клеток составляла около 20–24 % от общего количества нейронов, в двигательных – почти в 3 раза больше. В некоторых работах приводятся более высокие цифры относительного содержания NADPH-нейронов в солитарном ядре и дорсальном ядре блуждающего нерва – 68–72 % [7]. По-видимому, авторами учитывались нейроны и с неспецифическим окрашиванием. Количество NADPH-нейронов, отличавшихся активностью фермента, в дорсальном ядре блуждающего нерва во многом совпадало с отмеченными выше особенностями распределения клеток в ядре солитарного тракта [1, 2, 5]. Это может быть связано с тем, что в ядре солитарного тракта большинство афферентов – вагусного происхождения.

Участие оксида азота в функциях нервной системы чаще всего связывают с обеспечением им межнейронной связи в качестве эффективного мессенджера [10, 14]. При этом оксид азота часто ведет себя не как обычный нейромедиатор (ацетилхолин, норадреналин, серотонин), оказывающий влияние через поверхностные рецепторы целевых клеток, а как объемный нейротрансмиттер, создающий вокруг себя «поле воздействия» и модулирующий активность близлежащих нейронов [11, 12]. В этом случае Ca^{2+} под влиянием нейротрансмиттера возбужденного нейрона входит в клетку, где связывается в единый комплекс с кальмодулином в цитозоле. Комплекс «кальций-кальмодулин» выступает как кофактор, активирующий нитроксидсинтазу, что приводит к увеличению синтеза оксида азота. Оксид азота, диффундируя в соседние клетки, активизирует в них образование циклического гуанозинмонофосфата, под влиянием которого изменяется проводимость ионных каналов, а следовательно, и электрогенез нейронов. Этот процесс обеспечивает усиление и увеличение длительности выделения из пресинапса нейромедиатора, который, в свою очередь, оказывает возбуждающее действие на постсинаптический нейрон и приводит к возникновению обратной положительной связи с постоянным усилением [6, 12].

Таким образом, в отличие от большинства нейромедиаторов, которые функционируют в плоскости своего синаптического действия, оксид азота охватывает целые группы нейронов и синапсов разной медиаторной принадлежности, обеспечивая их функциональное единство. Это качество позволяет ему выступать

универсальным мессенджером во многих сложных процессах центральной нервной системы.

References

1. Andreeva N.A., Motavkin P.A., Shumatova T.A., Tihanskij S.N. The formation of nitric oxide by normal and damaged neurons in the plexuses ganglion and dorsal nucleus of the vagus nerve, *Citologija*. 2000. No. 2. P.170–175.
2. Starceva M.S., Kocjuba A.E., Koldaev V.M. The application of systems analysis methods to assess the significance of changes ergic neurons in the nuclei of the rats medulla oblongata with experimental hypertension, *Pacific Medical Journal [Tihookeanskij medicinskij zhurnal]*. 2011. No. 3. P. 61–64.
3. Starceva M.S., Chertok V.M. Quantitative evaluation of the intensity of histochemical and immunohistochemical reactions by using standard computer programs, *Pacific Medical Journal [Tihookeanskij medicinskij zhurnal]*. 2012. No. 1. P. 118–120.
4. Chertok V.M., Kocjuba A.E. Changes in the neurons of the medulla oblongata nuclei in chronic inhibition of NO-synthase, *Bjull. jeksperim. biol. i med.* 2011. V. 151, No. 1. P. 116–120.
5. Arevalo R., Alonso J.R., Garcia-Ojeda E. NADPH-diaphorase in the central nervous system of the tench, *J. Comp. Neurol.* 1995. Vol. 352. P. 398–420.
6. Bredt D.S. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology, *Free Radic. Res.* 1999. Vol. 31. P. 577–596.
7. Egberongbe Y.I., Gentleman S.M., Falkai P. The distribution of nitric oxide synthase immunoreactivity in the human brain, *Neuroscience*. 1994. Vol. 59. P. 561–578.
8. Hope B.T., Vincent S.R. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase, *J. Neurochem. Cytochem.* 1989. Vol. 37. P. 653–661.
9. Kadekaro M., Liu H., Terrell M. L. Role of NO on vasopressin and oxytocin release and blood pressure responses during osmotic stimulation in rats, *Am. J. Physiol. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1997. Vol. 273. P. 1024–1030.
10. Kimura Y., Hirooka Y., Sagara Y. Overexpression of inducible nitric oxide synthase in rostral ventrolateral medulla causes hypertension and sympathoexcitation via an increase in oxidative stress, *Circulation Res.* 2005. Vol. 96. P. 252–260.
11. Mufson E.J., Brady D.R., Carey R.G. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase (NADPH-d) histochemistry in the hippocampal formation of the new world monkey (*Saimirisciureus*), *Brain Res.* 1990. Vol. 516. P. 237–247.
12. Patel K.P., Li Y.-F., Hirooka Y. Role of nitric oxide in central sympathetic outflow, *Exp. Biol. and Med.* 2001. Vol. 226. P. 814–824.
13. Pitkanen A., Amaral D.G. Distribution of parvalbumin-immunoreactive cells and fibers in the monkey temporal lobe: The hippocampal formation, *J. Comp. Neurol.* 1993. Vol. 331. P. 37–74.
14. Vincent S.R. Nitric oxide: a radical neurotransmitter in the central nervous system, *Progr. Neurobiol.* 1994. Vol. 42. P. 129–160.
15. Zanzinger J. Role of nitric oxide in the neural control of cardiovascular function, *Cardiovasc Res.* 1999. Vol. 43. P. 639–649.

Поступила в редакцию 02.05.2012.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF NADPH-POSITIVE NEURONS IN SPINAL BULB NUCLEI IN HUMAN AND RAT

M.S. Startseva, T.A. Shumatova, L.D. Markina, P.A. Motavkin
Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russia)

Summary – The authors have investigated 7 nuclei of the spinal bulb in humans and rats and identified four types of neurons that differ in the response intensity on the NADPH-diaphorase. As reported, both in humans and rats there are similar regularities in the distribution of the nitric oxide-positive neurons in most nuclei: the neurons with the high activity of the DT-diaphorase prevail in the motor nuclei, and those of the low activity prevail in the sensitive ones.

Key words: NADPH-diaphorase, nitroxidergic neurons, nitric oxide, spinal bulb.

Pacific Medical Journal, 2012, No. 3, p. 74–76.