

скорочень гребінчастої мускулатури вушка передсердя в силу, необхідну для бічного переміщення шарів кровоплину через передсердя до лівого шлуночка і надання йому турбулентного руху. Внутрішня топографія правого та лівого вушок передсердь неправильна, та така зубчаста поверхня утворюється гребінчастими м'язами, трабекулами, множинними ямками та рідкісними дивертикулоподібними порожнинами. Екстра- та інтракорпоральні моделі штучного серця повинні мати рівнинну топографію, максимально наближену до будови серця людини, щоб уникнути серцево-судинних ускладнень. Розмір вушок передсердь та їх отворів слід враховувати під час операції на серцевих клапанах.

Ключові слова: вушка передсердь, отвір, серце, гребінчасті м'язи, трабекули.

Стаття надійшла 25.06.18 р.

к левому желудочку и придания ему турбулентного движения. Внутренняя топография правого и левого ушек предсердий неправильная, и такая зубчатая поверхность образуется гребенчатыми мышцами, трабекулами, множественными ямками и редкими дивертикулоподобными полостями. Экстра- и интракорпоральные модели искусственного сердца должны иметь равнинную топографию, максимально приближенную к строению сердца человека, чтобы избежать сердечно-сосудистых осложнений. Размер ушек предсердий и их отверстий следует учитывать при операции на сердечных клапанах.

Ключевые слова: ушки предсердий, отверстие, сердце, гребенчатые мышцы, трабекулы.

Рецензент Шепітько В.І.

DOI 10.26724/2079-8334-2018-3-65-189-196

УДК 611.818.5:611.81.013

В.О. Тихолаз, О.В. Ониськова, Р.В. Скорук, Н.А. Шпакова, Л.О. Ющенко
Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова, Вінниця

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕПЕНДИМНОГО ШАРУ ЧЕТВЕРТОГО ШЛУНОЧКА ТА ВОЛОКОН РАДІАЛЬНОЇ ГЛІЇ ДОВГАСТОГО МОЗКУ В ПРЕНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ

E-mail: tikholaz.vo@gmail.com

У роботі представлені результати морфологічного та гістологічного дослідження довгастого мозку у 230 ембріонів та плодів людини від 6-7 до 39-40 тижнів внутрішньоутробного розвитку. Препарати довгастого мозку забарвлено гематоксилін-еозином, метиленовим синім по Нісслю та імуногістохімічними маркерами (S100, синаптофізин, Ki-67, Vcl-2, віментин). Проведено комп'ютерну морфометрію та статистичну обробку отриманих даних. Встановлені різні вікові періоди зміни структури та клітинного складу епендимного шару четвертого шлуночку, виявлені особливості експресії імуногістохімічних маркерів в клітинах епендимного шару та вивчена топографія волокон радіальної глії довгастого мозку в ембріонів та плодів людини різного гестаційного віку.

Ключові слова: епендимний шар, нейральні стовбурові клітини, таніцити, епендимоцити, нейроонтогенез.

Робота є фрагментом НДР «Встановлення закономірностей органогенезу та гістогенезу і топографії внутрішніх органів зрідної, черевної порожнини, а також структур центральної нервової системи плодів людини (макроскопічне, гістологічне, імуногістохімічне та УЗ-дослідження). Порівняння отриманих даних з аналогічними у плодів з вродженими аномаліями розвитку», № держреєстрації 0113U05070.

Усе більш актуальним постає питання дослідження механізмів внутрішньоутробного розвитку організму людини з розвитком мікроскопічних оптичних приладів та вдосконаленням імуногістохімічних методів забарвлення гістологічних препаратів.

Однією з найважливіших стадій нейроонтогенезу є нейронна проліферація. До початку процесів міграції нейроепітеліальні клітини розташовуються у вентрикулярній зоні і поділяються симетрично, збільшуючи кількість нейронних прогеніторних клітин. Надалі клітини переходять до асиметричного поділу, внаслідок якого з однієї нейроепітеліальної клітини утворюється одна стовбурова і друга, яка може диференціюватися в нейробласт, клітину радіальної глії, короткий попередник нейрона або ж базальну прогеніторну клітку. Короткі попередники нейрона і клітини радіальної глії не залишають вентрикулярної зони, а базальні прогеніторні клітини відокремлюються від неї і формують субвентрикулярну зону [5]. Внаслідок процесів проліферації циліндричний нейроепітелій нервової трубки стає псевдобагатошаровим.

У вентрикулярній та субвентрикулярній ділянках нервової трубки концентруються основні пули стовбурових клітин, що верифіковано забарвленням зрізів ембріонального мозку мишей і щурів антитілами до нестину. Кількість нестинпозитивних клітин експоненціально зростає у всіх ділянках в процесі росту мозку. Антитіла до нестину забарвлюють новоутворенні клітини радіальної глії [0].

Швидкий ріст нервової тканини зародка здійснюється за рахунок проліферації та міграції прогеніторних клітин. В мозковому сегменті нервової трубки людини міграція прогеніторних клітин починається після першого місяця гестації і завершується в постнатальному періоді [0].

У зв'язку з пошуком можливих ділянок ембріогенезу у мозку дорослої людини науковці в

останні десятиріччя посилено досліджують будову та нейроонтогенез вентрикулярної ділянки бічних шлуночків головного мозку. В низці наукових робіт виявлені відмінності у будові та у тривалості клітинного циклу прогеніторів вентрикулярного та субвентрикулярного шару у різних тварин [6]. Клітинний склад вентрикулярного шару нервової трубки є предметом дискусії і до сьогодні. В теперішній час питання стосовно генеалогічних взаємовідношень між популяціями нейрогенних клітин вентрикулярного шару і клітинами радіальної глії залишається не вирішеним. Також залишається не дослідженою будова вентрикулярного (епендимного) шару четвертого шлуночка у ембріонів та плодів людини.

Метою роботи було встановити структурну організацію, гісто - та каріоцитометричні параметри епендимного (нейроепітеліального) шару четвертого шлуночка та особливості топографії волокон радіальної глії довгастого мозку в ембріонів та плодів людини в залежності від гестаційного віку.

Матеріал і методи дослідження. Проведено морфологічне та цитологічне дослідження ембріонів та плодів людини від 6-7 до 39-40 тижнів внутрішньоутробного розвитку (табл.1). Віковий склад об'єктів дослідження визначали за зведеними таблицями Б.М. Петтена (1959), А.Г. Кноре (1967), R. Beard (1984) та Т. Садлера (2001) на підставі вимірювання тім'яно-куприкової довжини (ТКД). Ембріонів та плодів людини було розділено на 14 вікових груп (див. таб. 1).

Таблиця 1

Розподіл ембріонів та плодів людини по вікових групах

| № вікової групи | Вік, тижні | Кількість | ТКД, мм | Маса, г |
|-----------------|------------|-----------|------------|--------------|
| 1. | 6-7 | 10 | 18,8±2,4 | 0,9±0,2 |
| 2. | 8-9 | 15 | 45,0±4,9 | 7,9±1,6 |
| 3. | 10-11 | 21 | 69,2±5,2 | 31,5±2,2 |
| 4. | 12-13 | 24 | 81,2±7,7 | 51,1±2,9 |
| 5. | 14-15 | 28 | 119,0±7,4 | 103,7±8,7 |
| 6. | 17-18 | 14 | 152,6±10,8 | 262,7±11,1 |
| 7. | 20-21 | 17 | 192,5±5,0 | 463,2±31,7 |
| 8. | 22-23 | 13 | 234,4±8,4 | 672,1±35,9 |
| 9. | 25-26 | 18 | 255,2±10,7 | 1100,7±57,2 |
| 10. | 28-29 | 17 | 298,1±12,4 | 1998,4±65,6 |
| 11. | 31-32 | 10 | 307,1±12,4 | 2122,4±65,6 |
| 12. | 34-35 | 15 | 337,3±13,0 | 2622,8±77,2 |
| 13. | 37-38 | 16 | 352,3±20,5 | 3117,1±102,7 |
| 14. | 39-40 | 12 | 378,9±20,5 | 3379,1±102,7 |
| Всього: | | 230 | - | - |

Матеріал для дослідження був отриманий після переривання вагітності, вади розвитку ЦНС були відсутні. Також дослідження виконано на мертворождалих, які загинули від причин, не пов'язаних із захворюваннями головного або спинного мозку у відносно здорових матерів. Препарування проведено у Вінницькому обласному патологоанатомічному бюро та пологових будинках м. Вінниці. Матеріали дослідження не суперечать основним біоетичним нормам Гельсінської декларації прийнятої 59 Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації у 2008 році. Отримані препарати довгастого мозку фіксували 10% нейтральним розчином формальдегіду, готували з них целуїдинові та парафінові блоки. В наступному виконували серійні горизонтальні зрізи довгастого мозку на рівні середини олив, товщиною 6-8 мкм, які забарвлювали гематоксилін-еозин, толуїдиновим синім (у модифікації Ніссля). Імуногістохімічні дослідження виконували з використанням стрептавідин-біотинного методу ("DAKO", Данія, LSAB2 Systems, HRP) відповідно до протоколів, рекомендованих виробником імуногістохімічних реактивів. Застосовували наступні маркери: проліферації (Ki-67), антиапоптозичний маркер (Bcl-2), маркер радіальної глії (віментин), маркер астроцитарної глії (S-100), маркер синаптогенезу (синаптофізин).

Морфометричне дослідження виконане на цифровому зображенні гістологічних мікропрепаратів довгастого мозку, отриманих за допомогою цифрової камери TREK (UCMOS14000KPA) з використанням мікроскопів Unico G380, МБС-10. Для проведення гістометрії та каріоцитометрії було використане ліцензійне програмне забезпечення "TourView

3.7” (версія: $\times 64$, 3.7.3036). У кожному з об’єктів дослідження вимірювання морфометричних параметрів виконували на трьох зрізах проведених через середину олив довгастого мозку в 6 полях зору. Під час проведення комп’ютерної гістометрії визначали площу клітин на кожному зрізі (по периметру цитоплазми, проведеному по зовнішньому контуру клітини) та визначали їх середнє значення. Кількість клітин для аналізу по кожному зрізу складало від 40 до 50. Результати кожної імунохімічної реакції оцінювали якісним та напівкількісним методом шляхом підрахунку відсотка позитивно забарвлених клітин у стандартизованому полі зору мікроскопа Unico G380 при збільшенні $\times 400$. У кожному досліджуваному випадку аналізували 500 клітин в 10 полях зору. Під час виконання морфометрії гістологічних препаратів враховували поправку на усадку тканин. Для дослідження відбирали гістологічні препарати лінійний коефіцієнт усадки яких у кожній досліджуваній групі становив 1,17, а площинний коефіцієнт – 1,09.

Цифрові дані були опрацьовані статистично за допомогою програмного забезпечення “Statistica 6.0”. Оцінювали правильність розподілу ознак по кожному з отриманих варіаційних рядів, середнє значення кожної ознаки та стандартне квадратичне відхилення. Достовірність відмінностей значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою t-критерія Ст’юдента (при нормальному розподілі ознак) або U-критерію Мана-Уїтні (якщо розподіл ознак не відповідав нормальному).

Результати дослідження та їх обговорення. На препаратах довгастого мозку забарвлених гематоксилін-еозином в епендимному шарі (ЕШ) ембріонів людини 6-7 тиж. виявлені нейральні стовбурові клітини (НСК) двох типів: з інтенсивно забарвленим базофільним ядром, які розташовувались у вигляді смужок та пронизували весь епендимний шар і, основну частку клітин ЕШ, становили клітини з помірно базофільними ядрами, які дифузно розсіяні по всьому ЕШ (рис. 1 А). Середня площа НСК з інтенсивно забарвленими ядрами становила $35,6 \pm 0,9$ мкм², а з помірно забарвленими ядрами – $12,3 \pm 0,2$ мкм². Отже, в ЕШ ембріонів людини 6-7 тиж. виявлено НСК різних розмірів, середня площа яких мала статистично значущі відмінності в 2,9 рази ($p < 0,001$). У плодів людини 8-9 тиж. в ЕШ було виявлено кулясті прогеніторні нервові клітини, які нами були розділені на три типи: зі слабким, помірним та інтенсивним забарвленням ядер (рис. 1 Б). Середнє значення площі прогеніторних клітин зі слабо забарвленими ядрами становило $49,4 \pm 1,1$ мкм², з помірно забарвленими ядрами – $50,3 \pm 1,5$ мкм², з інтенсивно забарвленими ядрами – $52,1 \pm 1,3$ мкм². Статистично значущих відмінностей площі клітин ЕШ у плодів людини 8-9 тижнів не встановлено ($p > 0,05$). З 10-11 по 17-18 тиж. гестації у плодів людини в епендимному шарі виявлені різні за формою прогеніторні клітини (кулясті та овальні), розміри яких не мали статистично значущих відмінностей ($p > 0,05$). Середні значення площі нервових клітин ЕШ у плодів людини 10-11 тиж. становили $53,9 \pm 1,1$ мкм², 12-13 тиж. – $51,2 \pm 1,8$ мкм², 14-15 тиж. – $48,1 \pm 1,9$ мкм², 17-18 тиж. – $37,5 \pm 1,7$ мкм².

На гістологічних препаратах довгастого мозку плодів людини з 20-21 по 28-29 тиж. морфологічних відмінностей клітини ЕШ при порівнянні з попередніми віковими групами не виявлено в тих ділянках ЕШ, які розташовуються на рівні серединної борозни та позаднього поля. В ділянках ЕШ розташованих на рівні трикутника під’язикового нерву та трикутника блукаючого нерва ідентифіковані клітини видовженої форми (таніцити), в яких визначається апікальний та базальний відростки (рис. 1 В). Середнє значення площі прогеніторних клітин ЕШ у плодів людини 20-21 тиж. становило $35,5 \pm 1,6$ мкм², 22-23 тиж. – $34,3 \pm 1,5$ мкм², 25-26 тиж. – $28,1 \pm 0,9$ мкм², 28-29 тиж. – $26,5 \pm 0,7$ мкм². Середні значення площі біполярних клітин видовженої форми (таніцитів) ЕШ у плодів людини 20-21 тиж. становили $40,2 \pm 1,7$ мкм², 22-23 тиж. – $38,2 \pm 1,7$ мкм², 25-26 тиж. – $36,8 \pm 1,5$ мкм², 28-29 тиж. – $34,3 \pm 1,5$ мкм². В кожній віковій групі виявлені статистично значущі відмінності в розмірах таніцитів та прогеніторних клітин ЕШ ($p < 0,05$).

У плодів людини 31-32 тиж. ЕШ зберігав псевдобагатошарову будову, в його товщі на рівні серединної борозни в рівних частках було виявлено клітини кулястої (овальної) форми (прогеніторні клітини) та видовжені біполярні клітини (таніцити). Середнє значення площі прогеніторних клітин ЕШ у плодів людини 31-32 тиж. становило $25,2 \pm 0,6$ мкм², 34-35 тиж. – $26,1 \pm 0,7$ мкм². Середні значення площі таніцитів ЕШ у плодів людини 31-32 тиж. становили $39,7 \pm 1,4$ мкм², 34-35 тиж. – $36,4 \pm 1,7$ мкм². В кожній віковій групі виявлені статистично значущі відмінності в розмірах таніцитів та прогеніторних клітин ЕШ ($p < 0,01$).

У плодів людини 37-38, 39-40 тижнів ЕШ представлений одношаровою смужкою видовжених біполярних клітин (епендимоцитів) (рис. 1 Г). В ЕШ на рівні трикутника блукаючого нерва та позаднього поля виявлено поодинокі прогеніторні клітини овальної (кулястої) форми. Середні значення площі прогеніторних кулястих нервових клітин ЕШ у плодів людини 37-38 тиж.

становило $25,4 \pm 0,7$ мкм², 39-40 тиж. – $26,3 \pm 0,7$ мкм², видовжених біполярних (епендимоцитів) у плодів людини 37-38 тиж. – $37,2 \pm 1,7$ мкм², 39-40 тижнів – $37,5 \pm 1,1$ мкм². В кожній віковій групі виявлені статистично значущі відмінності в розмірах таніцитів та прогеніторних клітин ЕШ ($p < 0,05$). Встановлено зменшення рівня експресії маркера проліферації Ki-67 у всіх ділянках ЕШ ембріонів та плодів людини з 6-7 по 39-40 тижнів гестації (рис. 1 Д). До 17-18 тижнів рівень експресії Ki-67 був більшим в ділянці позаднього поля порівняно з іншими ділянками ЕШ, а з 20-21 по 39-40 тиж. вищий рівень експресії даного маркера встановлено в ділянці трикутника під'язикового нерва (таблиця 2).

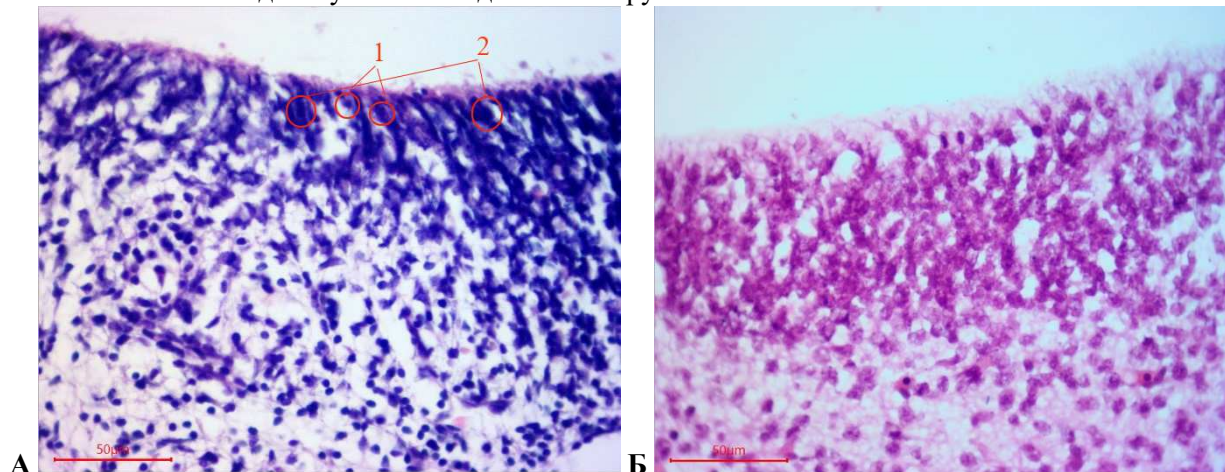
Таблиця 2

Рівень експресії маркера Ki-67 в різних ділянках епендимного шару

| Вік, тиж. | Експресія Ki-67 в епендимному шарі на рівні: | | | |
|-----------|--|-----------------------------------|--------------------------------|------------------------|
| | серединної борозни, % | трикутника під'язикового нерва, % | трикутника блукаючого нерва, % | позаднього поля, % |
| 6-7 | $8,29 \pm 0,23$ | $24,51 \pm 0,73$ | $22,43 \pm 0,67$ | $36,81 \pm 1,12$ |
| 8-9 | $7,13 \pm 0,21^*$ | $23,43 \pm 0,68$ | $20,72 \pm 0,62$ | $32,17 \pm 0,98$ |
| 10-11 | $6,83 \pm 0,19$ | $21,17 \pm 0,63$ | $18,85 \pm 0,59$ | $28,45 \pm 0,87$ |
| 12-13 | $6,52 \pm 0,18$ | $19,32 \pm 0,57$ | $17,29 \pm 0,52$ | $25,19 \pm 0,75$ |
| 14-15 | $6,01 \pm 0,19$ | $17,82 \pm 0,55$ | $15,74 \pm 0,49$ | $20,29 \pm 0,68^{**}$ |
| 17-18 | $5,82 \pm 0,18$ | $15,74 \pm 0,47$ | $14,83 \pm 0,44$ | $15,88 \pm 0,55^{**}$ |
| 20-21 | $5,63 \pm 0,17$ | $15,54 \pm 0,51$ | $14,62 \pm 0,47$ | $15,25 \pm 0,58$ |
| 22-23 | $5,17 \pm 0,17$ | $15,12 \pm 0,44$ | $14,17 \pm 0,41$ | $10,12 \pm 0,32^{***}$ |
| 25-26 | $4,89 \pm 0,15$ | $14,39 \pm 0,42$ | $13,03 \pm 0,38$ | $9,24 \pm 0,32$ |
| 28-29 | $4,47 \pm 0,13$ | $13,28 \pm 0,37$ | $12,26 \pm 0,35$ | $8,94 \pm 0,27$ |
| 31-32 | $4,12 \pm 0,11$ | $11,54 \pm 0,32^*$ | $10,13 \pm 0,31^{**}$ | $7,35 \pm 0,22^{**}$ |
| 34-35 | $3,94 \pm 0,10$ | $9,16 \pm 0,28^{**}$ | $8,19 \pm 0,23^{**}$ | $6,37 \pm 0,19^*$ |
| 37-38 | $3,29 \pm 0,07^*$ | $4,18 \pm 0,10^{***}$ | $3,75 \pm 0,09^{***}$ | $2,57 \pm 0,07^{***}$ |
| 39-40 | $2,11 \pm 0,06^{***}$ | $3,25 \pm 0,09^{**}$ | $2,33 \pm 0,07^{***}$ | $1,92 \pm 0,05^{**}$ |

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

На препаратах довгастого мозку забарвлених антитілами до S100 у плодів людини всіх досліджуваних вікових груп у ділянках ЕШ встановлено рівномірно високу експресію маркера S100 (рис. 1 Є). У ембріонів та плодів людини до 31-32 тиж. в ЕШ були виявлені кулясті або овальні як S100 позитивні так і S100 негативні клітини, з 31-32 і по 39-40 тиж. в ЕШ виявлені видовжені біполярні S100 позитивні клітини і кулясті (овальні) S100 негативні клітини. При дослідженні характеру експресії в ЕШ синаптофізину встановлено, що з 6 по 40 тижні в клітинах ЕШ реакція на даний маркер відсутня (рис. 1 Е). Встановлено сильну експресію антиапоптозного маркера Bcl-2 по всій довжині ЕШ у ембріонів та плодів людини з 6-7 по 17-18 тиж. (рис. 1 Ж). З 20-21 по 39-40 тиж. виявлено помірну експресію Bcl-2 у всіх ділянках ЕШ. Відносно сильний рівень експресії віментину виявлено у ембріонів та плодів людини виявлено з 6-7 по 39-40 тиж. вздовж усього епендимного шару.



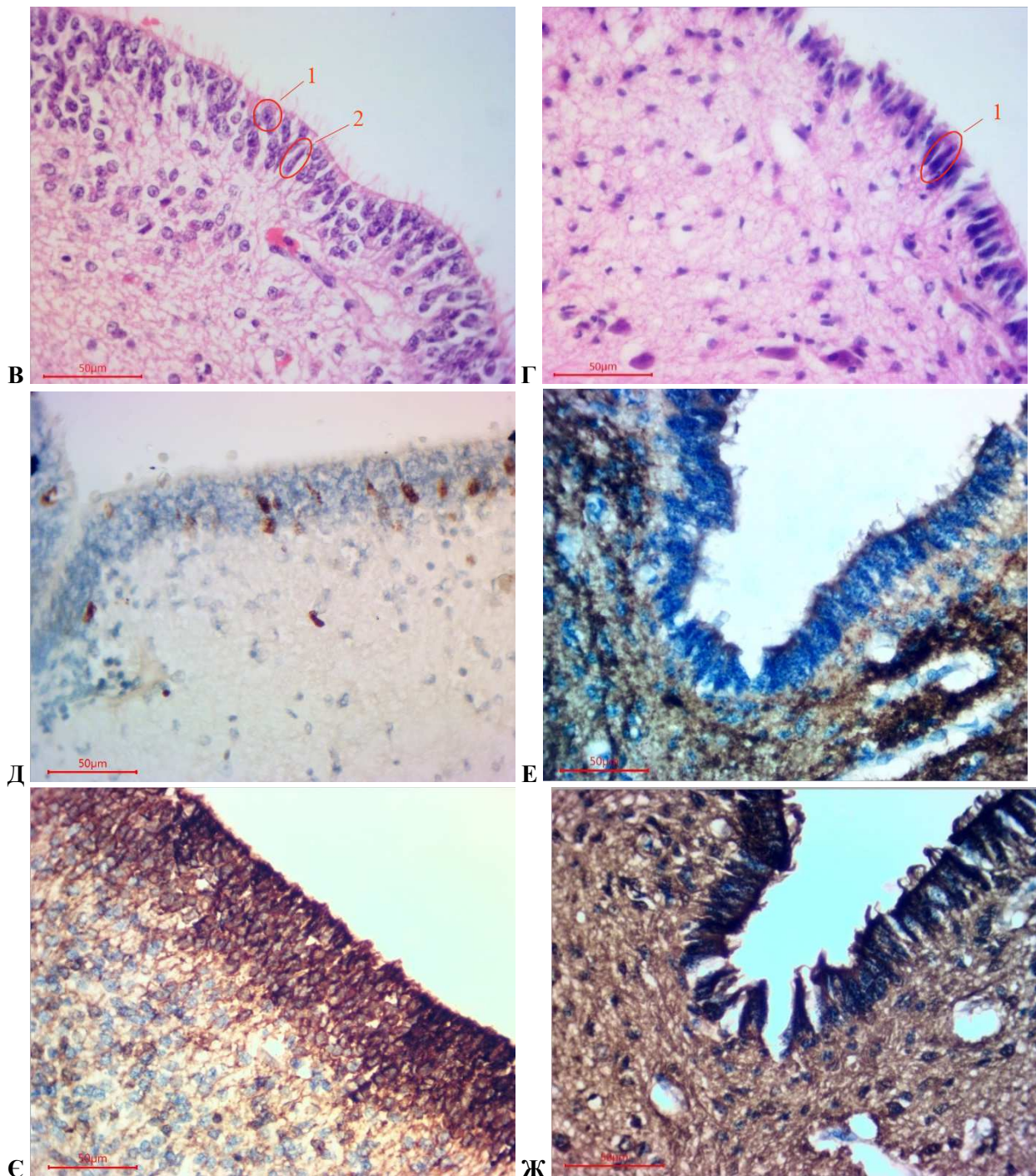


Рис. 1. Епендимний шар четверого шлуночка у ембріонів та плодів людини. А. Клітини ЕШ у ембріона людини 6-7 тижнів. Гематоксилін-еозин; x400: 1 – НСК з помірно базофільними ядрами; 2 – НСК із інтенсивно базофільними ядрами. Б. Клітини ЕШ на рівні позаднього поля у плода людини 8-9 тижнів. Гематоксилін-еозин; x400. В. Клітини ЕШ на рівні трикутника під'язикового нерва у плода людини 20-21 тиж. Гематоксилін-еозин; x400. 1 – прогеніторна клітина; 2 – таніцит. Г. Клітини ЕШ на рівні трикутника під'язикового нерва у плода людини 37-38 тижнів. Гематоксилін-еозин; x400: 1 – епендимоцит. Д. Експресія Ki-67 в клітинах ЕШ у плода людини 8-9 тижнів. Ki-67; x400. Е. Відсутня експресія синаптофізину в ЕШ у плода людини 37-38 тижнів. Синаптофізин; x400. Є. Експресія Vcl-2 в клітинах ЕШ в ембріона людини 6-7 тижнів. Vcl-2; x400. Ж. Експресія S-100 в клітинах ЕШ у плода людини 31-32 тижнів. S-100; x400.

Помірна експресія віментину встановлена у ембріонів та плодів людини виявлено з 6-7 по 39-40 тиж. у волокнах середнього шва, волокнах одинокого шляху, спинномозкового ядра трійчастого нерва. Слабку експресію віментину у ембріонів та плодів людини виявлено з 6-7 по 39-40 тиж. встановлено у волокнах радіальної глії. Під час проведеного дослідження за допомогою віментину встановлено, що у плодів людини до 14-15 тижнів базальний відросток волокон РГ пронизував наскрізь всю речовину довгастого мозку і досягав його піальної поверхні, в 17-18 тиж. – розташовувався на середині відстані між епендимним шаром та заднім додатковим оливним ядром, в 25-26 тиж. не виходив за межі субвентрикулярної зони. З 31 по 40 тиж. волокна РГ втрачали зв'язок з ЕШ і розташовувались лише залишки РГ в речовині довгастого мозку.

Відомо, що до закриття каудального та краніального нейропор НСК активно діляться, утворюючи нові популяції, тому різна інтенсивність забарвлення ядер в клітинах епендимного шару у ембріонів 6-7 тиж. та плодів людини 8-9 тиж. може вказувати на те, що клітини знаходились у різних фазах клітинного циклу.

Питання походження таніцитів на сьогодні є дискусійним, оскільки частина дослідників вважає, що вони розвиваються з попередників гліальних клітин, а інша частина – з радіальних гліоцитів і є перехідною формою між радіальним гліоцитом та епендимоцитом.

Білок S100B продукується астроцитами, олігодендроцитами, нейральними стовбуровими клітинами, швановськими клітинами, меланоцитами, хондроцитами, адипоцитами, лімфоцитами та іншими типами клітин [0]. В залежності від його концентрації володіє трофічною або токсичною дією на нейрони і гліальні клітини [7]. S100B модулює нейронну активність [5] і синаптичну пластичність [3], однак залежність експресії даного білка від нейронної активності досліджена недостатньо, що виявляється у розбіжності наявних даних. Оскільки білок S100 залучений у процеси транскрипції, фосфорилування білків, диференціювання та інші енергетичні та метаболічні процеси у клітині, то можна припустити, що поява відносно сильної експресії даного білка свідчить про процеси подальшого диференціювання, які відбуваються у таніцитах та з 37-38 тиж. – в епендимоцитах. Таким чином, за характером експресії маркера S100 можна припустити, що таніцит у процесі диференціювання перетворюється на епендимоцит.

Морфологічні, імуногістохімічні дані та морфометричні показники дозволили нам виявити наступні хронологічні закономірності зміни клітинного складу епендимного (нейроепітеліального) шару у ембріонів та плодів людини: у 6-7 тиж. в нейроепітеліальному шарі присутні НСК, які відрізнялися за інтенсивністю забарвлення їх ядер та площею, з 8 по 20 тиж. – лише одна популяція клітин, які відрізняються за формою – прогеніторні клітини, з 20 по 38 тиж. – дві популяції клітин – прогеніторні клітини та таніцити, з 38 тиж. – лише епендимоцити. Таким чином, з 8 по 20 тиж. клітини за морфометричними та морфологічними характеристиками між собою не відрізняються, тому віддиференціювати попередника нейрона або глії від клітин радіальної глії неможливо, і, як наслідок, в нашому дослідженні неможливо визначити походження таніцитів. Одним із найбільш часто досліджуваних маркерів проліферації є білок Ki-67, який міститься в ядрах клітин в фазах G1, S, G2 і під час мітозу. У всіх досліджуваних групах ембріонів та плодів людини нижчий рівень експресії Ki-67 встановлений у ділянці середньої борозни порівняно з іншими ділянками ЕШ. До 17-18 тиж. рівень експресії Ki-67 був більшим у ділянці позаднього поля, а з 17-18 по 39-40 тиж. вищий рівень експресії даного маркера встановлено в ділянці трикутника під'язикового нерва порівняно з іншими ділянками ЕШ, що свідчить про неоднакову проліферативну активність прогеніторних клітин різних ділянок даного шару під час пренатального періоду онтогенезу людини.

Білки Vcl-2 є основними регуляторами мітохондріального шляху апоптозу. Виявлений в нашому дослідженні відносно високий рівень експресії даного білка в клітинах ЕШ до 17-18 тиж. та помірний з 20-21 тиж. по 39-40 тиж. гестації ймовірно вказує на вищу апоптотичну активність НСК на більш ранніх термінах гестації. Імуногістохімічне виявлення синаптофізину використовується для оцінки синаптогенезу, який є одним із процесів, що характеризує диференціювання нервових клітин в онтогенезі та при культивуванні *in vitro*. Відсутність експресії даного маркера протягом пренатального періоду онтогенезу людини вказує ймовірно на те, що в ЕШ четвертого шлуночка становлення синаптичних зв'язків не відбувається. В наукових дослідженнях, які стосуються ЦНС, віментин використовується як маркер клітин-попередників та астрогліальних клітин. В ембріогенезі нервової системи віментин-імунопозитивні клітини виявляються в радіальній глії. Клітини радіальної глії походять з нейроепітеліальних клітин [1]. У дослідженнях характеру експресії віментину у спинному мозку ембріонів та плодів людини В. С. Школьніков (2015) виявив відносно високу експресію на 6-7 та 8-9 тиж., а на 11-12 тиж. волокна радіальної глії простежувалися тільки на деякій відстані від центрального каналу, з 22-23 тиж. – у нейроепітелії [2]. Якщо у вищенаведеному дослідженні вкорочення волокон радіальної глії спинного мозку виявлено у плодів людини 11-12 тиж., то у нашому дослідженні воно зафіксовано у 17-18 тиж., що свідчить про більш пізні терміни завершення міграції клітин у довгастому мозку та підтверджує теорію каудо-краніального градієнту розвитку ЦНС.

Висновки

1. У ембріонів 6-7 тиж. в епендимному шарі були виявлені нейральні стовбурові клітини, середнє значення площі яких мало статистично значущі відмінності. В епендимному шарі плодів

з 20-21 тиж. розташованому на рівні трикутника під'язикового нерва та трикутника блукаючого нерва виявлені таніцити. У плодів з 37-38 тижня епендимний шар був представлений одношаровою смужкою епендимоцитів, в якому на рівні трикутника блукаючого нерва та позаднього поля містилися поодинокі прогениторні клітини.

2. У нейральних стовбурових клітинах епендимного шару рівень експресії білка проліферації Ki-67 до 17-18 тиж. гестації був більшим у ділянці позаднього поля, а з 20-21 по 39-40 тиж. вищий рівень його експресії встановлений у ділянці трикутника під'язикового нерва. Виявлено сильну експресію антиапоптозного білка Bcl-2 по всій довжині епендимного шару у ембріонів та плодів людини з 6-7 по 17-18 тижні. З 20-21 по 39-40 тиж. виявлено помірну експресію Bcl-2 у всіх ділянках епендимного шару.

3. З 6-7 по 39-40 тиж. відносно висока експресія віментину встановлена в епендимному шарі та низька у волокнах радіальної глії. У плодів до 14-15 тиж. базальний відросток волокон пронизував наскрізь всю речовину довгастого мозку і досягав його піальної поверхні, з 17-18 тиж. – розташовувався на середині відстані між епендимним шаром та заднім додатковим оливним ядром, з 25-26 тиж. не виходив за межі субвентрикулярної зони. З 31-32 по 39-40 тиж. розташовувалися залишки волокон радіальної глії у речовині довгастого мозку.

У перспективі подальших розробок планується встановити закономірності пренатального розвитку епендимного шару четвертого шлуночка за допомогою електронної мікроскопії.

Список літератури

1. Korzhevskiy DE, Kirik OV, Karpenko MN, Grigorev IP, Suhorukova EG, Kolos EA, Gilyarov AV. Teoreticheskie osnovyi i prakticheskoe primenenie metodov immunogistohimii. Moskov: Izd. SpetsLit; 2014. 170 p. [in Russian].
2. Shkolnikov VS. Osoblyvosti histohenezu matrychnoho sharu spynnoho mozku embrioniv ta plodiv liudyny. Lvivskiy medychnyi chasopys. 2015;21(1):29-34. [in Ukrainian].
3. Hirase H, Iwai Y, Takata N, Shinohara Y, Mishima T. Volume transmission signalling via astrocytes. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2014;369(1654):1-7.
4. Kong XZ, Song Y, Zhen Z, Liu J. Genetic Variation in S100B Modulates Neural Processing of Visual Scenes in Han Chinese. Cereb Cortex. 2017 Feb 1;27(2):1326-1336.
5. Malatesta P, Götz M. Radial glia – from boring cables to stem cell stars. Development. 2013 Feb 1;140(3):483-486.
6. Ponti G, Obernier K, Guinto Cr, Jose L, Bonfanti L, Alvarez-Buylla A. Cell cycle and lineage progression of neural progenitors in the ventricular-subventricular zones of adult mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(11):1045-54.
7. Rajewska-Rager A, Pawlaczyk M. The role of S100B protein as a potential marker in affective disorders. Psychiatr Pol. 2016;50(4):849-57.
8. Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Tubaro C, Bianchi R, Giambanco I, Donato R. S100B protein in tissue development, repair and regeneration. World J Biol Chem. 2013 Feb 26;4(1):1-12.
9. Stiles J, Jernigan TL. The Basics of Brain Development. Neuropsychol Rev. 2010 Dec; 20(4): 327–348.
10. White RE, Barry DS. The emerging roles of transplanted radial glial cells in regenerating the central nervous system. Neural Regen Res. 2015;10(10):1548-51.

Реферати

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПЕНДИМНОГО СЛОЯ ЧЕТВЕРТОГО ЖЕЛУДОЧКА И ВОЛОКОН РАДИАЛЬНОЙ ГЛИИ ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА

Тихолаз В. А., Ониськова О.В., Скорук Р. В., Шпакова Н. А., Ющенко Л.А.

Выполнено морфологическое и гистологическое исследование продолговатого мозга у 230 эмбрионов и плодов человека от 6-7 до 39-40 недель внутриутробного развития. Препараты продолговатого мозга окрашены гематоксилин-эозином, метиленовым синим по Нисслю и иммуногистохимическими маркерами (S100, синаптофизин, Ki-67, Bcl-2, виментин). Проведено компьютерную морфометрию и статистическую обработку полученных данных. Установлены различные возрастные периоды изменения структуры и клеточного состава епендимного слоя четвертого желудочка, выявлены особенности экспрессии иммуногистохимических маркеров в клетках епендимного слоя и изучена топография волокон радиальной глии продолговатого мозга у эмбрионов и плодов человека различного гестационного возраста углубляет и расширяет представление о нейроонтогенезе ЦНС.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE EPENDYMAL LAYER OF THE FOURTH VENTRICLE AND THE FIBERS OF THE RADIAL GLIA OF THE MEDULLA OBLONGATA DURING THE PRENATAL PERIOD OF HUMAN ONTOGENESIS

Tykholaз V. O., Oniskova O.V., Skoruk R. V., Shpakova N. A., Yushchenko L. O.

Morphological and histological studies of the medulla oblongata in 230 embryos and human fetuses from 6-7 to 39-40 weeks of intrauterine development were performed. Medications of the medulla oblongata stained with hematoxylin-eosin, methylene blue according to Nissl method and immunohistochemically markers (S100, synaptophysin, Ki-67, Bcl-2, vimentin). Computer morphometry and statistical processing of the data were carried out. The different age periods of the changes in the structure and cellular composition of the ependymal layer of the fourth ventricle were determined, the features of the expression of immunohistochemically markers in the cells of the ependymal layer were revealed, and the topography of the fibers of the radial glia of the medulla oblongata in embryos and fetuses of a person of different gestational age was deepened and expanded with respect to the neuroonogenesis of the central nervous system.

Ключевые слова: эпендимный слой, нейральные стволовые клетки, танициты, эпендимоциты, нейроонтогенез.

Key words: ependymal layer, neural stem cells, tannocytes, ependymocytes, neuroonthogenesis.

Стаття надійшла 14.03.18 р.

Рецензент Масвський О.Є.

DOI 10.26724/2079-8334-2018-3-65-196-199

УДК 616.33

О.В. Харченко, О.О. Шерстюк
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава
Полтавський національний педагогічний університет ім. В.Г. Короленка, Полтава

НАСЛІДКИ ІНФЕКЦІЇ *HELICOBACTER PYLORI*

E-mail: kharchenko7591@gmail.com

В роботі показані наслідки впливу інфекції *Helicobacter pylori* на слизову оболонку шлунка. Задіяні як гістологічні методики, так і молекулярно-біологічна методика (ISSR-PCR) з використанням ISSR –праймеру S-2, із структурою (AGC)6G. Проаналізовані зміни слизової оболонки шлунка при *H. pylori*-асоційованих захворюваннях: хронічній виразковій хворобі дванадцятипалої кишки, хронічній виразковій хворобі шлунка, виразковоінфільтративному раку шлунка. Гістологічно в слизовій оболонці шлунка знайдені дисплазії трьох ступенів тяжкості (Д-1; Д-2; Д-3). Генотипічно в слизовій оболонці знайдені зміни, що відповідають мікросателітним експансіям, що є свідченням передракових змін.

Ключові слова: *Helicobacter pylori*, дисплазії, мікросателітні експансії.

Робота є фрагментом НДР «Формування сучасних методів хірургічного лікування і профілактики ускладнень захворювань і травм органів грудної клітки і черевної порожнини», № державної реєстрації 0110U002649.

Ґрунтовний аналіз проблеми «*H. pylori* і рак шлунка», проведений Міжнародною агенцією з вивчення рака (IARC) ВООЗВ 1994 році відніс інфекцію *H. pylori* до канцерогенів 1 групи. Канцерогенами 1-ї групи IARC вважають фактори зовнішнього середовища, у відповідності до яких є достатньо доказів канцерогенності для людини. Ще зовсім недавно навіть думка про те, що рак шлунка може бути пов'язаний з первинною бактеріальною інфекцією могла повидітись абсурдною, але результати досліджень останніх років роблять цю концепцію правдоподібною.

Епідеміологічні дослідження показали, що рак шлунка у інфікованих *H. pylori* зустрічається в 4-6 разів частіше, ніж у неінфікованих [1]. В країнах з високим ризиком раку шлунка враження *H. pylori* шлунка з'являються вже в ранньому дитинстві, і це дає можливість вважати, що тривала інфекція може бути причиною прогресування хронічного гастриту і раку шлунка. Має надзвичайний інтерес той факт, що значне зниження захворюваності на рак корелює з інфекуванням *H. pylori*. Так, в Японії, де захворюваність на рак шлунка була однією із самих високих у світі, смертність від нього знизилась біше ніж в два рази: у чоловіків із 100 до 40/100000 та у жінок з 50 до 20/100000. Однією з причин зниження інфекованості *H. pylori* вважається збільшення вживання в останні роки населенням різних країн поліненасичених жирів і їх есенціальних жирних кислот, що інгібують ріст *H. pylori* [7].

Метою дослідження було виявити феномен мікросателітних експансій в передпухлинних процесах та раку шлунка.

Матеріал та методи дослідження. Досліджено операційний матеріал шлунків, що резецировані з приводу інфільтративно-виразкового раку шлунка (ІВРШ) – 50, хронічної виразки шлунка (ХВШ) – 50, хронічної виразки дванадцятипалої кишки (ХВДПК) – 50. Вказані хвороби були *Helicobacter pylori*-асоційовані. У хворих для вивчення частоти виявлення дисплазій досліджувалась слизова оболонка шлунка яку брали з країв виразки(пухлини), центру виразки (пухлини), навколо пухлини, з пілоричного відділу, малої кривизни та тіла шлунка. З парафінових блоків із різних топографоанатомічних відділів слизової оболонки шлунка одержали зрізи, які фарбували гематоксилін-еозином, пікрофуксином за Ван-Гізеном, за загальноприйнятими схемами та вміщували в полістерол. Вплив інфекції *Helicobacter pylori* (HP) на стан слизової оболонки шлунка вивчали на напівтонких зрізах, виготовлених з епоксидних блоків. В якості барвника використовували 0,1% розчин толуїдинового синього на фосфатному буфері з рН 7,4. Фіксатором слугував 10% розчин нейтрального формаліну або 4% холодний розчин глутаральдегіду. При дослідженні паралельно з гістологічним методом (маркер фенотипу), за допомогою якого вивчалась динаміка дисплазій (Д) слизової оболонки шлунка (СОШ), проводилось вивчення змінень ДНК(як маркер генотипу) СОШ в динаміці за допомогою полімеразної ланцюгової реакції [4]. В СОШ