

**ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ЛОБОВОЇ ЧАСТКИ
КІНЦЕВОГО МОЗКУ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ 12-13 ТИЖНІВ
ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ
(АНАТОМО-ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

**Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
(м. Вінниця)**

v.shkolnikov@gmail.com

Дане дослідження виконане в рамках науково-дослідної роботи за темою «Встановлення закономірностей органогенезу і топографії внутрішніх органів грудної, 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», № державної реєстрації 0113U005070.

Вступ. Протягом життя у структурі головного мозку людини відбуваються якісні та кількісні зміни, що представляють цікавість не тільки з погляду теоретичних і практичних аспектів медичної науки, але є важливими чинниками для розуміння вікової нейроморфології або при патологічних станах [9].

Протягом останніх років дослідження порушення розвитку головного мозку на ранніх стадіях онтогенезу привертає увагу багатьох спеціалістів. Рання діагностика, а надалі і прогнозування вроджених аномалій головного мозку у дітей є найактуальнішою проблемою перинатології, неврології, нейрофізіології та генетики [5,6].

Крім того, лобові частки головного мозку людини відповідають за низку важливих особливостей діяльності людини [1]. Серед них – формування особистісних характеристик, індивідуальність, мова,

мимовільні рухи, співдружне обертання голови та очних яблук тощо [2].

У зв'язку з цим, як для практичної діяльності, так і для теоретичних розробок, істотне значення має дослідження вікової та індивідуальної мінливості структури мозку у пренатальному онтогенезі людини, у вивченні якого, незважаючи на багаторічні дослідження, залишається досить багато прогалин.

Метою дослідження є встановлення макроморфологічних параметрів півкуль головного мозку, а також цитоархітекtonіки та морфометричних параметрів структур лобової частки плодів людини 12-13 тижнів внутрішньоутробного розвитку.

Об'єкт і методи дослідження. Проведено анатомо-гістологічне, імуногістохімічне та морфометричне дослідження півкуль головного мозку 12 плодів людини гестаційним терміном (ГТ) – 12-13 тиж., які були отримані у результаті пізнього абортів в Обласному патологоанатомічному бюро м. Вінниці. Вроджені аномалії ЦНС відсутні. Тім'яно-куприкова довжина (ТКД) склала – $87,0 \pm 4,1$ мм, маса – $46,4 \pm 3,2$ г (рис. 1).

Отриманий матеріал фіксувався у розчині 10% нейтрального формальдегіду, після чого півкулі заливали у парафінові та целоїдинові блоки. Після виготовлення серійних зрізів півкуль головного мозку товщиною 10-12 мкм препарати забарвлювали ге-

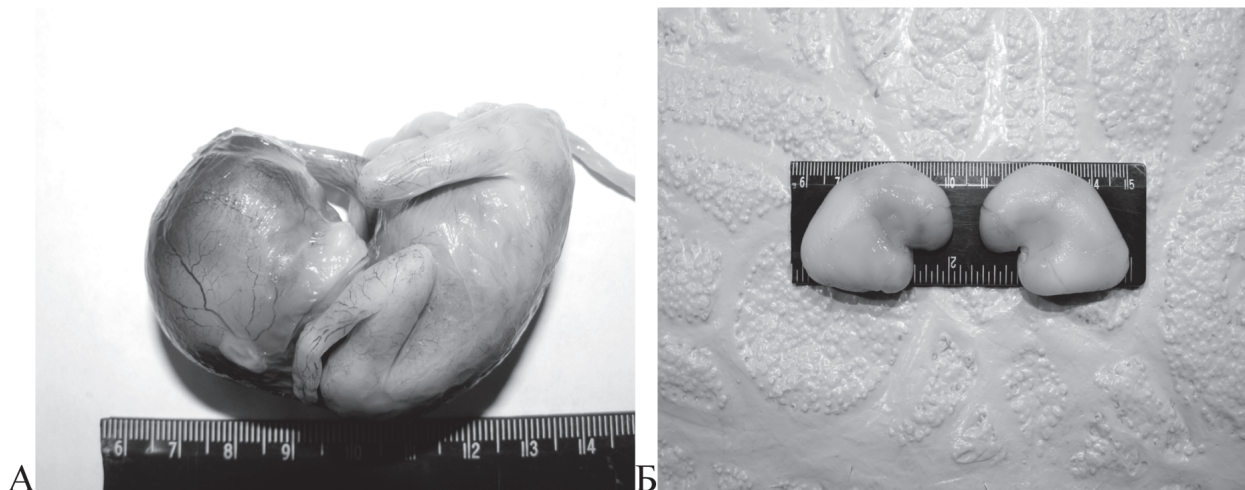


Рис. 1. Плод людини 12-13 тижня внутрішньоутробного розвитку. ТКД – 91,8 мм. А-загальний вигляд. Б-права та ліва півкулі кінцевого мозку (верхньо-бічна поверхня).

матоксиліном та еозином, толуїдиновим синім та за Ван-Гізон. Під час імуногістохімічного дослідження були використані діагностичні моноклональні антитіла фірми «DacoCytomation»: віментин, Ki-67 та синаптофізин.

Проведені наукові дослідження відповідають морально-етичним принципам Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000 рр.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), відповідним положенням ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.) та законам України.

Робота була проведена у відповідності до вимог «Інструкції про проведення судово-медичної експертизи», затвердженої наказом МОЗ України № 6 від 17.01.1995 року та типовим положенням про комісії з питань етики, затвердженого наказом МОЗ України № 690 від 23.09.2009 року.

Для проведення морфометричного дослідження використовували мікроскоп SIGETA та МБС-10. Фотофіксація та морфометрія отриманих зрізів виконувалася за допомогою камери ETREK Устос та комп'ютерної програми TourViem (комп'ютерна гістометрія).

Встановлення макрометричних параметрів півкуль головного мозку здійснювалося за власною методикою [4].

Статистична обробка цифрових даних здійснювалася за допомогою стандартного програмного пакета «Statistica 6.0» фірми Statsoft.

Результати дослідження та їх обговорення. У процесі дослідження нами були отримані наступні макрометричні параметри півкуль головного мозку. Лівої півкулі: довжина – $30,0 \pm 1,8$ мм, висота – $21,0 \pm 1,3$ мм; товщина – $9,0 \pm 0,8$ мм; вага – $2,9 \pm 2,2$ г; правої півкулі: довжина – $29,9 \pm 1,7$ мм; висота – $22,5 \pm 1,3$ мм; товщина – $9,5 \pm 1,0$ мм; вага – $3,4 \pm 2,5$ г.

Верхньо-бічна поверхня лобової частки правої та лівої півкуль гладенька. Формування бічної борозни у даному гестаційному терміні відбувається у вигляді ямки, яка відділяє лобову частку від скроневої. Лобові борозни та звивини відсутні (рис. 1). За даними Garel С. (2001) та Дворяковский И. В. (2001) утворення центральної борозни починається у плодів людини з 20 тижня внутрішньоутробного періоду. Protzenko E. V. (2014) вказує на дещо пізні строки початку інтенсивного формування основних борозен першого порядку, це – 22-28 тиж. До 28-32 тиж. формування усіх борозен першого порядку завершується і на 33-37 тиж. утворюються усі решта [11]. Початок утворення борозен (22-28 тиж.) збігається із завершенням нейронального диференціювання і формуванням рухового неокортексу [11]. Проте, нами встановлено, що на присередній поверхні візуалізуються борозни мозолистого тіла та ознаки

первинних звивин: тім'яно-потиличної та острогової.

При дослідженні гістоцитологічної архітектури лобових часток півкуль головного мозку, у даному гестаційному терміні, чітко візуалізується п'ять шарів: вентрикулярна зона, субвентрикулярна зона, проміжна зона, кіркова пластинка та крайова зона (рис. 2). Widjaja E. (2010) теж вирізняє аналогічні шари кори лобової частки [7]. Проте, автором не вказаний гестаційний термін досліджуваних плодів.

Загальна товщина сірої та білої речовини півкуль головного мозку у проекціях верхньої, середньої та нижньої лобових звивин, а також вищевказаних шарів варіює, як у правій півкулі, так і у лівій. Так, загальна товщина речовини мозку у ділянці правої півкулі верхньої лобової звивини (ВЛЗ) склала $1491,4 \pm 76,0$ мкм, у середній лобовій звивині (СЛЗ) – $2134,3 \pm 98,2$ мкм та у нижній лобовій звивині (НЛЗ) $1200,9 \pm 57,6$ мкм. Тоді, як загальна товщина речовини мозку у ділянці лівої півкулі ВЛЗ дорівнювала $1458,5 \pm 71,7$ мкм, у СЛЗ – $1781,7 \pm 85,4$ мкм та у НЛЗ – $1268,2 \pm 60,9$ мкм.

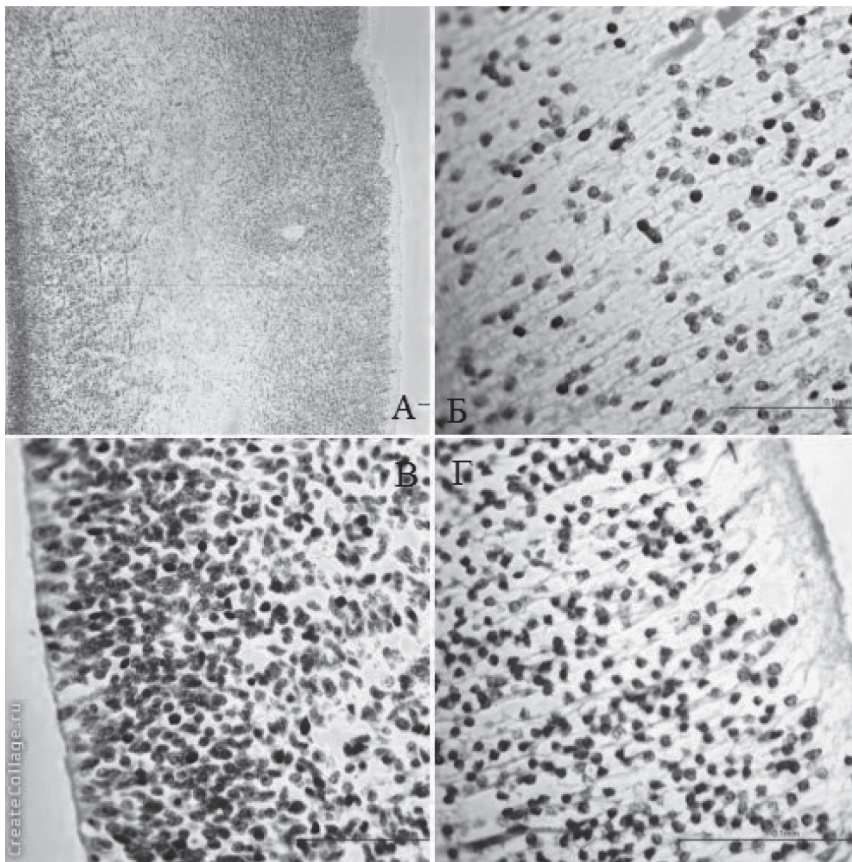


Рис. 2. Лобова частка головного мозку плоду людини гестаційним терміном 12-13 тиж. А – фронтальний переріз правої півкулі на рівні лобової частки. Гематоксилін-еозин. Ч400. Б – проміжна зона. Гематоксилін-еозин. Ч400. В – вентрикулярна і субвентрикулярна зони. Гематоксилін-еозин. Ч400. Г – кіркова пластинка і крайова зона. Гематоксилін-еозин. Ч400.

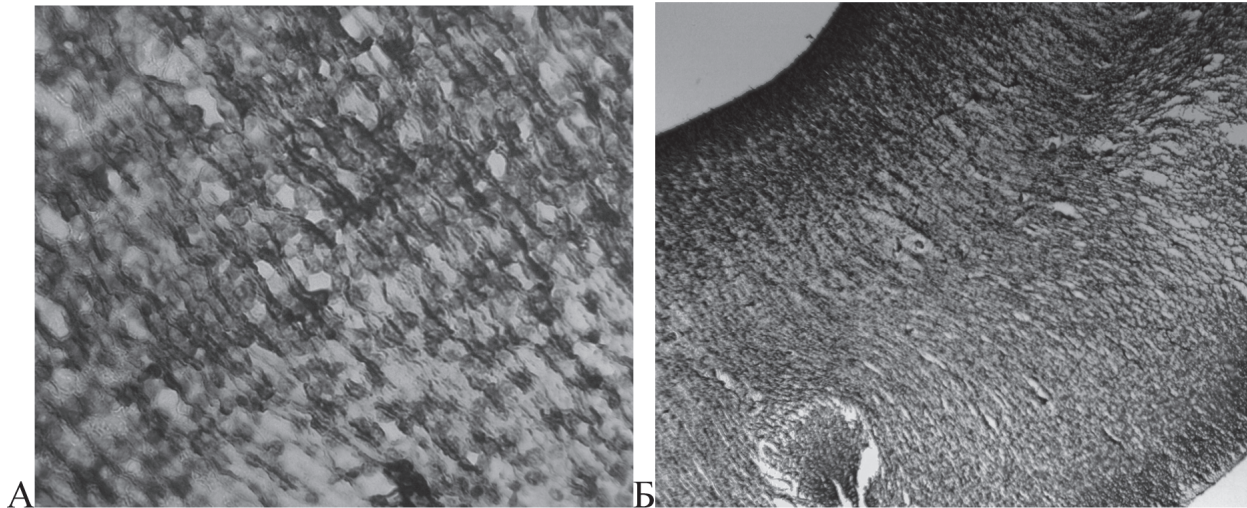


Рис. 3. А – міграція НСК з вентрикулярної зони у субвентрикулярну зону уздовж волокон РД. Віментин. **Ч400**. **Б** – волокна радіальної глії проходять від вентрикулярної зони до проміжної зони. Віментин. **Ч400**.

Що стосується товщини окремих шарів звивин лобової частки обох півкуль, то нами були отримані такі результати: товщина вентрикулярної зони ВЛЗ правої півкулі – $115,4 \pm 5,2$ мкм, СЛЗ – $111,9 \pm 5,2$ мкм та НЛЗ – $108,3 \pm 5,0$ мкм. Аналогічні морфометричні параметри лівої півкулі: ВЛЗ – $114,4 \pm 5,3$ мкм, СЛЗ – $112,8 \pm 5,0$ мкм та НЛЗ – $109,9 \pm 5,2$ мкм. Товщина кіркової пластинки ВЛЗ правої частки становила $412,3 \pm 17,4$ мкм та відповідно лівої – $319,5 \pm 14,1$ мкм. Товщина кіркової пластинки СЛЗ правої частки становила $747,7 \pm 38,9$ мкм та відповідно лівої – $631,7 \pm 31,0$ мкм. Товщина кіркової пластинки НЛЗ правої півкулі дорівнювала $334,3 \pm 16,2$ мкм та лівої – $362,2 \pm 17,1$ мкм. Товщина крайової зони ВЛЗ правої півкулі склала $100,6 \pm 5,0$ мкм, СЛЗ – $97,6 \pm 4,8$ мкм і НЛЗ – $96,8 \pm 4,9$ мкм. Товщина крайової зони ВЛЗ, СЛЗ і НЛЗ лівої півкулі відповідно дорівнювала $102,6 \pm 4,9$ мкм, СЛЗ – $97,0 \pm 5,0$ мкм та НЛЗ – $96,4 \pm 4,9$ мкм.

Найбільша щільність нейральних стовбурових клітин (НСК) нами спостерігалася у вентрикулярній зоні усіх структур обох півкуль і становила $220,0 \pm 11,0$ клітин на $0,01$ мм². У кірковій пластинці щільність нейральних клітин (нейронів та гліоцитів) – $130,0 \pm 6,0$ клітин на $0,01$ мм². У субвентрикулярній зоні (НСК) – $115,0 \pm 4,0$ клітин на $0,01$ мм². Найменша щільність клітин візуалізувалася у проміжній зоні – $35,0 \pm 2,0$ клітин на $0,01$ мм².

Samuelsen G. B. (2003) у своїх дослідженнях вказував на той факт, що до 20-го тиж. внутрішньоутробного розвитку загальна кількість нейральних клітин (нероцити і гліобласти) у шарах кінцевого мозку збільшується та від 20-го тиж. і до моменту народження поступово зменшується [12]. Отже, за нашою думкою вивчення клітинного росту у кінцевому мозкові ембріонів та плодів людини має важливе значення, оскільки може слугувати для оцінки кіркового росту в неінвазивних дослідженнях та покращити аналіз ембріональних порушень мозку.

Застосування білку-проліферації Ki-67 у вентрикулярній (матричній) зоні показало, що за напівкількісною шкалою експресія є помірною [10],

прореагувало 42% клітин. У зв'язку з даним явищем ми пов'язуємо й максимальну щільність клітин у вентрикулярній зоні мігрують уздовж волокон радіальної глії (РД) у інші зони лобових звивин лобової частки (рис. 3). Самі волокна РД починаються від базальної мембрани вентрикулярної зони, пронизують субвентрикулярну зону у радіальному напрямку та закінчуються у проміжній зоні (рис. 3). Експресія віментину у волокнах РД спостерігалася відносно помірною у проміжній зоні та відносно сильною у вентрикулярній та субвентрикулярній зонах.

Таким чином, у процесі дослідження нами були встановлені макрометричні параметри півкуль головного мозку, а також особливості цитоархітектоники та морфометричних параметрів структур лобової частки плодів людини 12-13 тижнів внутрішньоутробного розвитку.

Висновки. Найбільшу товщину має кіркова пластинка усіх структур лобової частки. Проте, найбільшу щільність клітин має вентрикулярна (матрична) зона, що пов'язано з помірним ступенем проліферативної активності нейральних стовбурових клітин (прореагувало 42% клітин). Найменша щільність клітин спостерігалася у проміжній зоні. Експресія віментину у волокнах радіальної глії спостерігалася відносно помірною у проміжній зоні та є відносно сильною у вентрикулярній та субвентрикулярній зонах.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження передбачають встановлення закономірностей розташування шарів білої та сірої речовини головного мозку людини у пренатальному періоді із застосуванням імуно-гістохімічних методик та порівняння отриманих даних зі структурною організацією головного мозку плодів із мальформаціями.

Література

1. Бережная М.А. Анализ нейроно-глиально-капиллярных взаимоотношений V слоя в верхних лобных извилинах головного мозга человека в зависимости от пола, возраста и полушария / М.А. Бережная // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 2, Т. 3 (109). – С. 247-251.
2. Бобрик І.І. Сучасні аспекти функціональної анатомії центральної нервової системи / І.І. Бобрик, В.Г. Черкасов. – Київ, 2001. – 152 с.
3. Дворяковский И.В. Ультразвуковое исследование мозга новорожденных детей / И.В. Дворяковский, А.Б. Сугак // Нормальная анатомия. – 2001. – № 8. – С. 82-93.
4. Пат. 98355 Україна, МПК А61В 5/107. Спосіб визначення розмірів півкуль головного мозку у плода людини / Школьніков В.С., Тихолаз В.О., Стельмашук П.О., Дацишин П.Т.; заявл. 10.11.2014; опубл. 27.04.2015, Бюл. № 8.
5. Сафонова И.Н. Перинатальные и отдаленные результаты при различных эхографических вариантах аномалий головного мозга плода (литературный обзор) / И.Н. Сафонова // Неонатология, хірургія та перинатальна медицина. – 2014. – Т. 4, № 4. – С. 87-92.
6. Халиков А.Д. МРТ-диагностика мальформаций кортикального развития, аномалий дивертикуляции головного мозга плода / А.Д. Халиков, Т.Н. Трофимова // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13, № 1. – С. 52-60.
7. Alteration of Human Fetal Subplate Layer and Intermediate Zone During Normal Development on MR and Diffusion Tensor Imaging / E. Widjaja, S. Geibprasert, S. Mahmoodabadi, S. Blaser [et al.] // Am. J. Neuroradiol. – 2010. – Vol. 31. – P. 1091-1099.
8. Fetal cerebral cortex: normal gestational landmarks identified using prenatal MR imaging / C. Garel, E. Chantrel, H. Brisse, M. Elmaleh [et al.] // Am. J. Neuroradiol. – 2001. – Vol. 22 (1). – P. 184-189.
9. Gilbert S. Developmental Biology / S. Gilbert. – Sunderland: Swarthmore College, 2000. – 412 p.
10. Indefinite for non-invasive neoplasia lesions pn gastric intestinal metaplasia: the immunophenotype / M. Cassaro, M. Rugge, C. Tieppo, L. Giacomelli [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2007. – Vol. 60 (6). – P. 615-621.
11. Morphological changes in ventricular germinal zone and neocortex of the cerebral hemispheres in human fetuses and newborns on weeks 22-40 of prenatal development / E.V. Protsenko, M.E. Vasil'eva, L.P. Peretiatko, A.I. Malyshkina // Ontogenez. – 2014. – Vol. 45 (5). – P. 349-354.
12. The changing number of cells in the human fetal forebrain and its subdivisions: a stereological analysis / G. Samuelsen, K. Larsen, N. Bogdanovic [et al.] // Cereb. Cortex. – 2003. – Vol. 13. – P. 115-122.

УДК: 611.813.11:618.29

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ЛОБОВОЇ ЧАСТКИ КІНЦЕВОГО МОЗКУ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ 12-13 ТИЖНІВ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ (АНАТОМО-ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Школьніков В. С., Стельмашук П. О.

Резюме. Під час дослідження встановлені макрометричні параметри півкуль головного мозку плодів людини 12-13 тижнів, а також структурна організація, морфометричні параметри структур лобової частки головного мозку та морфологія радіальної глії. Найбільшу товщину має кіркова пластинка усіх структур лобової частки. Проте, найбільшу щільність клітин має вентрикулярна (матрична) зона, що пов'язано з помірним ступенем проліферативної активності нейральных стовбурових клітин (прореагувало 42% клітин). Найменша щільність клітин спостерігалася у проміжній зоні. Експресія віментину у волокнах радіальної глії спостерігалася відносно помірною у проміжній зоні та є відносно сильною у вентрикулярній та субвентрикулярній зонах.

Ключові слова: кінцевий мозок, лобова частка, морфометричні параметри, внутрішньоутробний розвиток, радіальна глія.

УДК: 611.813.11:618.29

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЛОБНОЙ ДОЛИ КОНЕЧНОГО МОЗГА ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА 12-13 НЕДЕЛЬ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ (АНАТОМО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Школьніков В. С., Стельмашук П. О.

Резюме. В ходе исследования установлены макрометрические параметры полушарий головного мозга плодов человека 12-13 недель, а также структурная организация, морфометрические параметры структур лобной доли головного мозга и морфология радиальной глии. Наибольшую толщину имеет корковая пластинка всех структур лобной доли. При этом, наибольшую плотность клеток имеет вентрикулярная (матричная) зона, что связано с умеренной степенью пролиферативной активности нейральных стволовых клеток (прореагировало 42% клеток). Наименьшая плотность клеток наблюдалась в промежуточной зоне. Экспрессия виментина в волокнах радиальной глии наблюдалась относительно умеренной в промежуточной зоне и относительно сильной в вентрикулярной и субвентрикулярной.

Ключевые слова: конечный мозг, лобная доля, морфометрические параметры, внутриутробное развитие, радиальная глия.

UDC: 611.813.11:618.29

FEATURES OF STRUCTURAL ORGANIZATION OF FRONTAL LOBE OF TELEENCEPHALON HUMAN FETUS 12-13 WEEKS FETAL DEVELOPMENT (ANATOMICAL AND HISTOLOGICAL EXAMINATION)

Shkolnikov V. S., Stelmashchuk P. O.

Abstract. It is important for practice and theoretical developments to study individual variability and age structure of the brain in the prenatal period of human ontogenesis, the study of which, despite the long-term research, remains a lot of gaps.

Purpose. A research aim is to establish the parameters of macrometric cerebral hemispheres and cytoarchitectonic and morphometric parameters of frontal lobe structures of human fetuses 12-13 weeks of fetal development.

Materials and methods. An anatomical and histological, immunohistochemical and morphometric study of the cerebral hemispheres of 12 human fetuses gestational period — 12-13 weeks were done, as a result of late abortion in the Regional Office postmortem m. Vinnytsya. Congenital abnormalities of the central nervous system were absent. Thyme-coccygeal length amounted to — $87,0 \pm 4,1$ mm, weight — $46,4 \pm 3,2$ g.

Preparations were stained with hematoxylin and eosin, toluidine blue and for Van Ghisoni. It was used diagnostic monoclonal antibodies firms «DacoCytomation»: vimentin, Ki-67 and synaptofizyn during immunohistochemical study.

Results. In the study, we obtained the following parameters makrometric hemispheres of the brain. Left hemisphere: length — $30,0 \pm 1,8$ mm, height — $21,0 \pm 1,3$ mm; thickness — $9,0 \pm 0,8$ mm; weight — $2,9 \pm 2,2$ g; the right hemisphere: length — $29,9 \pm 1,7$ mm; height — $22,5 \pm 1,3$ mm; thickness — $9,5 \pm 1,0$ mm; Weight g — $3,4 \pm 2,5$.

Formation of lateral grooves in this gestational period occurs in the form of holes that separates the frontal lobe from the temporal. Frontal gyrus and sulcus absent. However, we found that the medial surface of the corpus callosum displays furrows and convolutions of the primary features: parieto-occipital and calcarinal.

The total thickness of the substance of the brain in the region of the right hemisphere of the upper frontal gyrus (UFG) amounted to $1491,4 \pm 76,0$ microns, in the middle frontal gyrus (MFG) — $2134,3 \pm 98,2$ microns and the lower frontal gyrus (LFG) $1200,9 \pm 57,6$ microns. Then, the total thickness of the substance of the brain in the region of the left hemisphere UFG amounted to $1458,5 \pm 71,7$ microns, in MFG — $1781,7 \pm 85,4$ microns and in LFG — $1268,2 \pm 60,9$ microns. In the study of histocytoarhitektonics of frontal lobes of the cerebral hemispheres in this gestational period It was clearly displays five layers: ventricular zone sub ventricular zone, intermediate zone, cortical plate and regional zone.

The highest density of neural stem cells (NSC) we observed in the ventricular zone of all structures of both hemispheres and amounted to $220,0 \pm 11,0$ cells per 0.01 mm². In the cortical plate density of neural cells (neurons and the gliocytes) — $130,0 \pm 6,0$ cells to 0.01 mm². In subventricular zone NSC — $115,0 \pm 4,0$ cells to 0.01 mm². The lowest density of cells is visualized in the intermediate zone — $35,0 \pm 2,0$ cells to 0.01 mm².

The use of proliferation protein Ki-67 in the ventricular (matrix) area showed that expression by semiquantitative scale is moderate, 42% of the cells was reacted. Because of this phenomenon we associate and the maximum density of cells in the ventricular zone. NSC after proliferation in the ventricular zone migrate along radial glial fibers (RG) in the other zones of frontal gyrus of the frontal lobe. The fibers RG begin of the basement membrane of ventricular zone, penetrate subventricular zone in the radial direction and end in the intermediate zone. The expression of vimentin in fibers RG was relatively moderate in the intermediate zone and a relatively strong in subventricular and ventricular zone.

Conclusions. The ventricular (matrix) zone has the highest density of cells, due to the moderate proliferative activity of neural stem cells (were reacted 42% of cells). The lowest density of cells was observed in the intermediate zone. Vimentin expression in radial glial fibers was relatively moderate in the intermediate zone and was relatively strong in the ventricular and subventricular zone.

Keywords: telencephalon, frontal lobe, morphometric parameters, fetal period, radial glia.

Рецензент — проф. Шерстюк О. О.

Стаття надійшла 09.10.2016 року