
© Школьніков В.С., Залевський Л.Л.

УДК: 611.817.1:618.29

Школьніков В.С., Залевський Л.Л.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул.Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ МОЗОЧКА ПЛОДІВ ЛЮДИНИ 39-40 ТИЖНІВ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ

Резюме. Під час дослідження встановлені макрометричні параметри півкуль та черв'яка мозочка плодів людини 39-40 тижнів, а також структурна організація, морфометричні параметри утворів мозочка та морфологія радіальної глії.

Ключові слова: півкулі мозочка, черв'як мозочка морфометричні параметри, внутрішньоутробний розвиток, радіальна глія.

Вступ

Сучасний етап розвитку перинатології характеризується широким використанням ехографії для оцінки стану і розвитку плода та новонародженого. Неінвазивний та нешкідливий метод, із високим ступенем інформативності і можливістю динамічного спостереження сприяли тому, що ехографія стала одним із провідних методів пренатального дослідження плода. У зв'язку з цим правильне розуміння та клінічна інтерпретація даних ультразвукового дослідження необхідні в сучасних умовах практично кожному лікарю акушер-гінекологу та неонатологу [5].

Метод фетометрії, тобто вимірювання різних анатомічних структур плода, є обов'язковим компонентом ультразвукового дослідження в акушерстві. За результатами проведених вимірювань лікар може судити про термін вагітності, наявність відхилень від нор-

мативних показників, які найчастіше свідчать про затримку внутрішньоутробного розвитку плода (ЗВУР) і вроджені вади розвитку (ВВР) окремих систем та органів плода [1].

Фетометрія в нашій країні стає все більш актуальною. Фетометричні нормативи, якими користувалися лікарі ультразвукової діагностики до недавнього часу (а в багатьох регіонах вони використовуються донині), ґрунтувалися на міжнародних стандартах та стандартах окремих країн. Оцінка результатів, отриманих в ході вимірювання різних анатомічних структур плода, проводилася за середніми показниками нормативних таблиць без урахування їх можливих коливань. Це, в свою чергу, призводило до досить великої кількості хибно-позитивних діагнозів ЗВУР та вроджені вади розвитку ЦНС [2, 3].



Рис. 1. Мозочок плода людини 39-40 тижнів внутрішньоутробного розвитку. ТКД - 374,5 мм (нижня поверхня).

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

Метою дослідження було - встановити макрометричні параметри півкуль та черв'яка мозочка, а також цитоархітектуру та морфометричні параметри структур мозочка плодів людини 39-40 тиж. внутрішньоутробного розвитку.

Матеріали та методи

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", № держ. реєстрації 0113U005070.

Проведено анатомо-гістологічне, імуногістохімічне та морфометричне дослідження півкуль та черв'яка мозочка 10 плодів людини гестаційним терміном (ГТ) 39-40 тиж. (рис. 1), які були отримані у результаті пізнього абортів у обласному патологоанатомічному бюро м. Вінниці. Вроджені аномалії ЦНС були відсутні. Тім'яно-куприкова довжина (ТКД) склала $374,5 \pm 15,2$ мм, маса - $3287,5 \pm 134,2$ г.

Отриманий матеріал фіксували у розчині 10% нейтрального формальдегіду, після чого мозочок заливали у парафінові та целоїдинові блоки. Після виготовлення серійних зрізів мозочку товщиною 10-12 мкм препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином, толуїдиновим синім та за Ван-Гізон. Під час імуногістохімічного дослідження були використані діагностичні моноклональні антитіла фірми "DacoCytomation":

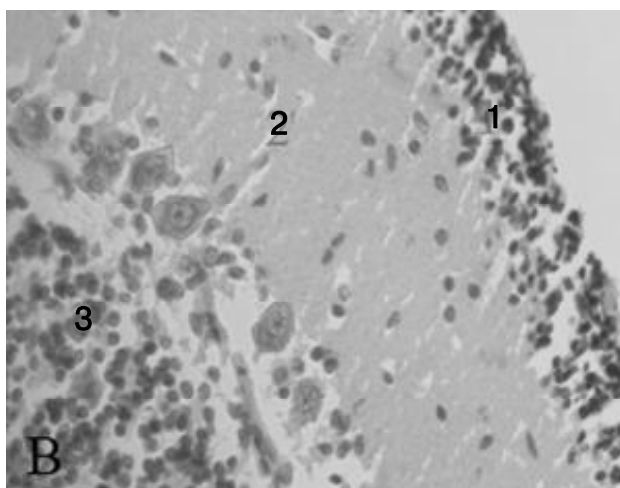
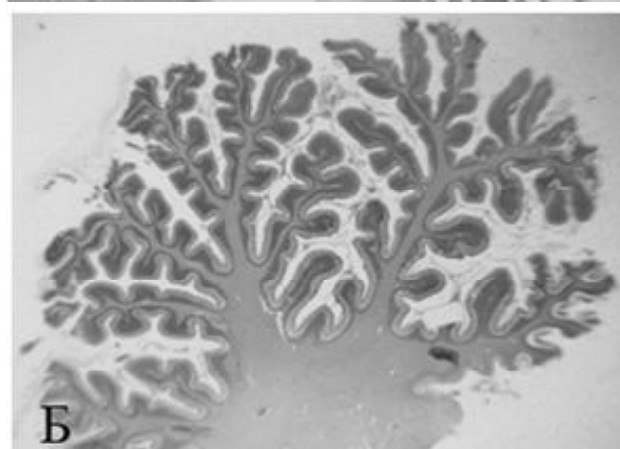
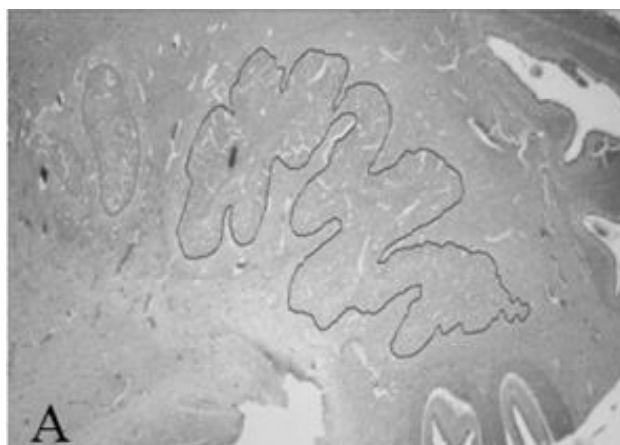


Рис. 2. Горизонтальний переріз мозочка плода людини 39-40 тиж. А - ядра правої півкулі мозочка: зубчасте ядро (зелений колір), кіркоподібне ядро (червоний колір), кулясте ядро (синій колір). Гематоксилін-еозин; $\times 10$. Б - черв'як мозочка (вертикальний зріз). Гематоксилін-еозин; $\times 6$. В - шари: 1 - зовнішньозернистий шар, 2 - молекулярний шар, 3 - внутрішньозернистий шар. Клітини Пуркін'є. Гематоксилін-еозин; $\times 400$.

віментин, Ki-67 та синаптофізин.

Для проведення морфометричного дослідження використовували мікроскоп SIGETA та МБС-10. Фотофіксацію та морфометрію отриманих зрізів виконували

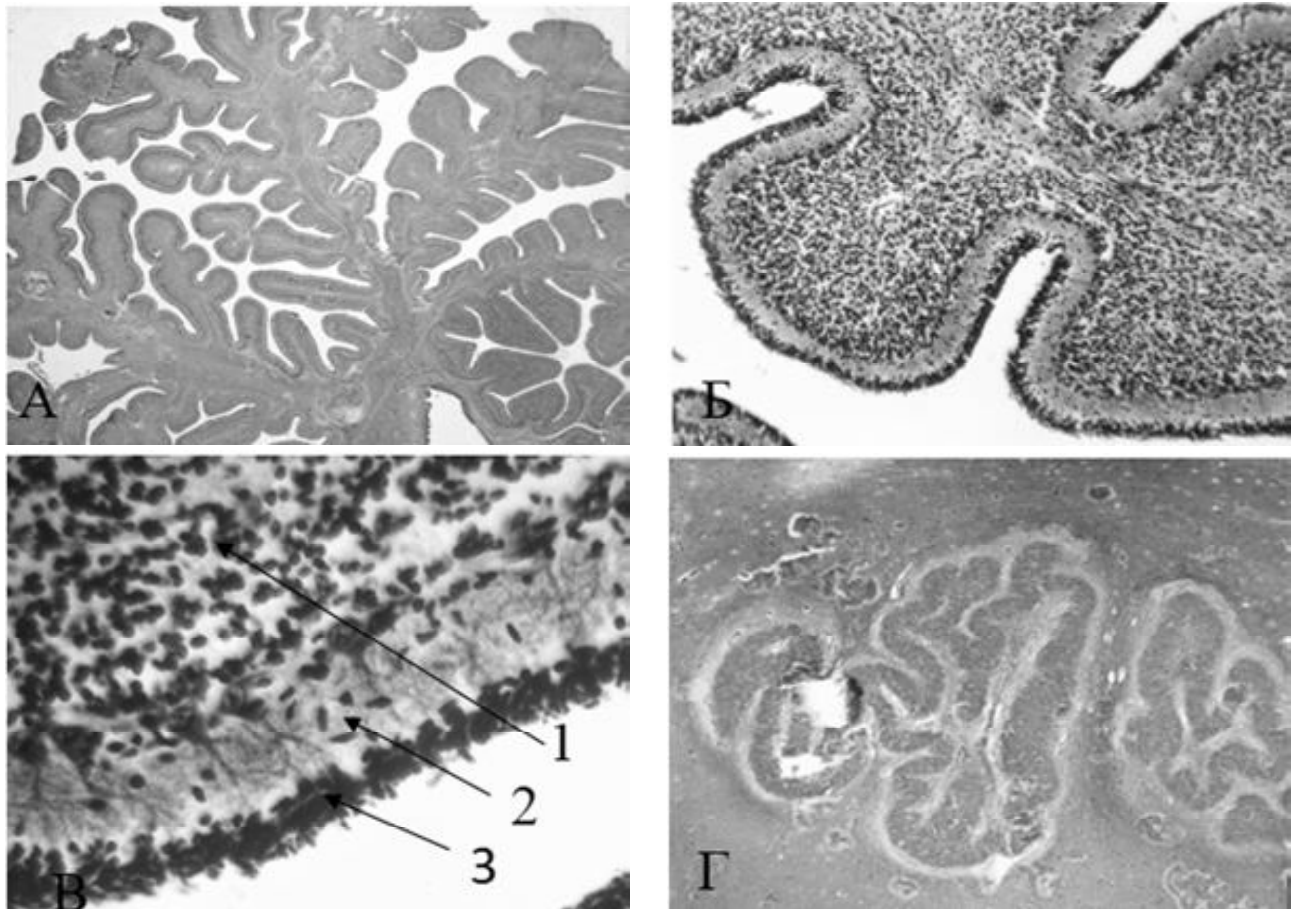


Рис. 3. А - переріз черв'яка мозочка. Дерево життя. Імпрегнація сріблом за Більшовським; $\times 10$. Б - черв'як мозочка. Імпрегнація сріблом за Більшовським; $\times 100$. В - шари: 1 - внутрішньозернистий шар, 2 - молекулярний шар, 3 - зовнішньозернистий шар. Імпрегнація сріблом за Більшовським; $\times 400$. Г - зубчасте ядро мозочка. Імпрегнація сріблом за Більшовським; $\times 20$.

ли за допомогою камери ETREK Ustos та комп'ютерної програми TopView (комп'ютерна гістометрія).

Встановлення макрометричних параметрів півкуль та черв'яка мозочка здійснювали за власною методикою [4].

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою стандартного програмного пакета "Statistica 6.0" фірми "Statsoft".

Результати. Обговорення

У процесі дослідження нами були отримані наступні макрометричні параметри півкуль та черв'яка мозочка. Поперечний розмір мозочка становив $53,0 \pm 2,1$ мм. Лівої півкулі: повздовжній розмір - $30,0 \pm 1,3$ мм, висота - $24,0 \pm 0,9$ мм; поперечний розмір - $20,0 \pm 0,8$ мм; правої півкулі: повздовжній розмір - $30,0 \pm 1,2$ мм; висота - $24,0 \pm 1,0$ мм; поперечний розмір - $21,0 \pm 0,8$ мм. Поперечний розмір черв'яка - $12,0 \pm 0,4$ мм; повздовжній розмір черв'яка - $17,0 \pm 0,7$ мм; висота черв'яка - $16,0 \pm 0,7$ мм; маса мозочка - $17,0 \pm 0,8$ г.

У мозочку розрізняють верхню і нижню поверхні, межею між якими є задній край мозочка, де прохо-

дить глибока горизонтальна щілина. На нижній поверхні розташоване широке заглиблення - долина мозочка. Верхня і нижня поверхні півкуль і черв'яка мають велику кількість поперечних щілин, що йдуть паралельно одна одній, між котрими знаходяться довгі і вузькі листки (звивини) мозочка. Борозни мозочка ідуть не перериваючись через півкулі і через черв'як. Кожній частці черв'яка відповідають дві (права і ліва) частки півкуль. Yamaguchi K. (1997) встановив, що з 28-29 тиж. внутрішньоутробного життя візуалізуються сформовані звивини або борозни по всій поверхні мозочка [9].

Rakic P. (2004) охарактеризував шари мозочка у період з 7 по 40 тиж. гестації. До 10 тиж. проліферація клітин була обмежена вентрикулярною зоною. Зовнішній зернистий шар з'являється, як окремий шар у 10-11 тиж., а клітини Пуркін'є з'являються до 13 тижня. У 20-21 тиж. перетинають проміжний шар (майбутній молекулярний шар). Поява 5 шару визначається з 32 тиж. Під час дослідження цитоархітектоники півкуль і черв'яка мозочка, у даному гестаційному терміні чітко візуалізуються такі шари: вентрикуляр-

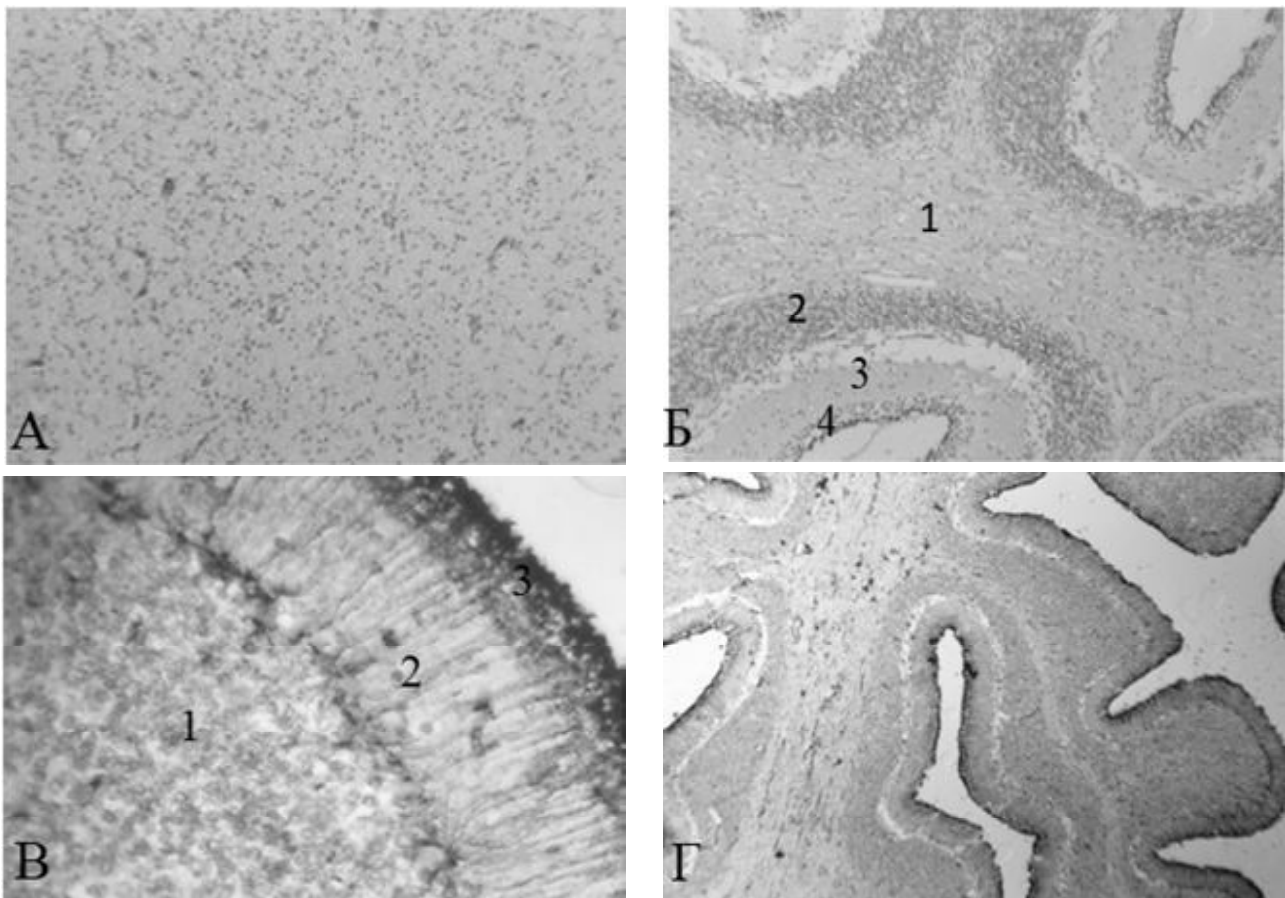


Рис. 4. А - Проліферація гліобластів у півкулях мозочка (коричневий колір) Ki-67; x10. Б - черв'як мозочка, 1 - біла речовина, 2 - внутрішньозернистий шар, 3 - молекулярний шар, 4 - зовнішньозернистий шар. Ki-67; x100. В - 1 - внутрішній зернистий шар, 2 - молекулярний шар, 3 - зовнішній зернистий шар. Віментин; x400. Г - черв'як мозочка. Віментин; x100.

ний шар, проміжна зона і кора мозочка. Аналогічні шари мозочка вирізняє й Rakic P. (2004) [8].

Автором встановлено, що мозочок утворюється за рахунок розростання дорсолатеральної стінки нервової трубки в ділянці заднього мозку. У перші тижні розвитку людини міграція нейробластів матричної зони призводить до закладки ядер і клітин Пуркін'є. У 9-11 тиж. матричні стовбурові клітини відокремлюються від епендимного шару і мігрують (первинна міграція) на поверхню зачатку мозочка. Там вони утворюють зовнішній гермінативний шар (до 21 тиж. розвитку його товщина складає 6-9 клітинних шарів).

Нами встановлено, що гістоцітоархітектоніка півкуль мозочка у даному гестаційному терміні чітко візуалізується. На горизонтальному зрізі мозочка зубчасте ядро, має форму тонкої ввігнутої стрічки, яка своєю опуклою частиною обернена дорсо-латерально. У медіальному напрямку контури зубчастого ядра не замкнені, це місце називають воротами зубчастого ядра. Також, нами встановлено 2 шари: біла речовина, кіркова зона, яка у свою чергу поділяється на внутрішній зернистий, проміжний, зовнішній зернистий шари (рис. 2, 3).

Загальна товщина всіх шарів мозочка у правій та лівій півкулях варіює. Так, загальна товщина усіх шарів правої півкулі мозочка - $9689,3 \pm 436,2$ мкм, загальна товщина кори правої півкулі мозочка - $926,9 \pm 43,6$ мкм, зовнішній зернистий - $47,4 \pm 1,9$ мкм, молекулярний - $35,6 \pm 1,5$ мкм, внутрішній зернистий - $843,9 \pm 38,8$ мкм, біла речовина - $8762,4 \pm 420,6$ мкм. Загальна товщина всіх шарів лівої півкулі мозочка - $9571,6 \pm 469,0$ мкм, загальна товщина кори лівої півкулі мозочка - $889,5 \pm 40,9$ мкм, зовнішній зернистий - $46,1 \pm 1,8$ мкм, молекулярний - $34,2 \pm 1,4$ мкм, внутрішній зернистий - $809,2 \pm 40,5$ мкм, біла речовина - $8682,1 \pm 425,4$ мкм. Загальна площа правого зубчастого ядра склала - $8,7 \pm 0,4$ мм², загальна площа лівого зубчастого ядра склала $8,2 \pm 0,4$ мм². Загальна площа кіркоподібного ядра (правого) склала $1,0 \pm 0,1$ мм², лівого - $0,9 \pm 0,1$ мм². Загальна площа кулястого ядра (правого) склала $0,20 \pm 0,05$ мм², лівого - $0,20 \pm 0,05$ мм². Загальна площа ядра вершини, (правого) склала $0,10 \pm 0,05$ мм², лівого - $0,10 \pm 0,05$ мм².

Найбільша щільність нейральних стовбурових клітин (НСК) нами спостерігалася у зовнішньому зернистому шарі у обох півкуль і становила $272,0 \pm 12,5$

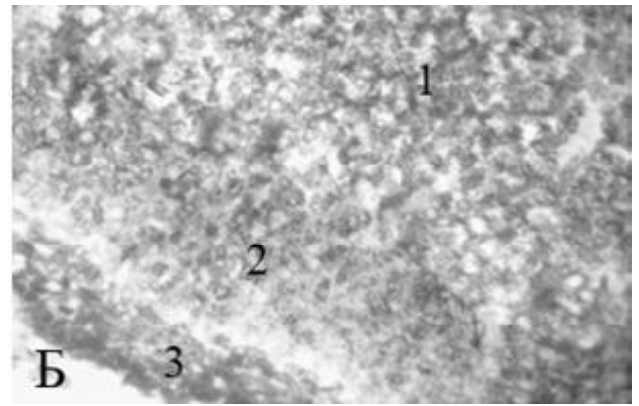
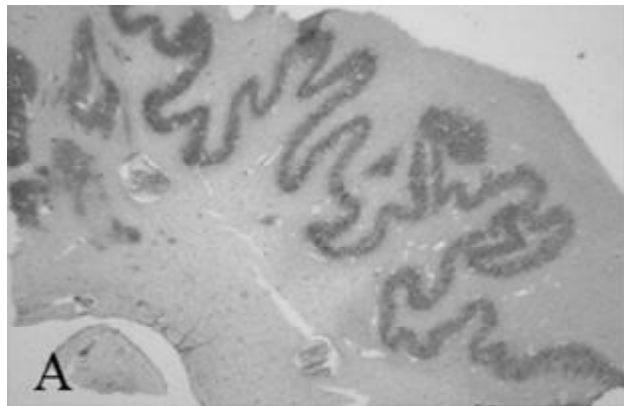


Рис. 5. А - півкуля мозочка, ядра. Синаптофізін; х6. Б - черв'як мозочка: 1 - зовнішньозернистий шар, 2 - молекулярний шар, 3 - внутрішньозернистий шар. Синаптофізін; х400.

клітин на $0,01 \text{ мм}^2$. У внутрішньому зернистому шарі (нейронів та гліоцитів) кількість клітин на $0,01 \text{ мм}^2$ становить $152,0 \pm 7,6$, у білій речовині - $40,0 \pm 1,9$. Найменша щільність клітин візуалізувалася у молекулярному шарі - $27,0 \pm 1,2$ клітин на $0,01 \text{ мм}^2$. Нами була встановлена площа та діаметр клітин Пуркін'є, які розташовуються в молекулярному шарі щільно до внутрішньо зернистого шару площа становить $201,4 \pm 9,7 \text{ мкм}^2$, діаметр - $15,0 \pm 0,7 \times 14,9 \pm 0,6 \text{ мкм}$.

Таким чином, на нашу думку, вивчення проліферації клітин у мозочку ембріонів та плодів людини має важливе значення, оскільки може слугувати для оцінки кіркового росту і появи ядер мозочка у білій речовині мозочка, неінвазивних дослідженнях та покращити аналіз ембріональних порушень мозочка.

Під час застосування білка-проліферації Ki-67 спостерігалася більш інтенсивна проліферація клітин у внутрішньо зернистому шарі мозочка і менш інтенсивна у білій речовині (рис. 4 А, Б). Abraham H. (2001) описує, що у проведених дослідженнях імуноцитохімічним маркером білку-проліферації Ki-67 велика кількість мічених Ki-67 клітин утворюється у внутрішньому зернистому шарі між 24 і 28 тижнями гестації. З 36 тижня гестації, індекс маркування складає менше 1%, хоча деякі мічені клітини завжди можна знайти в цьому шарі навіть в кінці післяпологового періоду [6].

Під час застосування віментину нами було встановлено, що волокна радіальної глії пронизують усі зони мозочка у радіальному напрямку та закінчуються у зовнішньому зернистому шарі. Експресія віментину у волокнах радіальної глії спостерігалася відносно помірною у білій речовині, та відносно сильно у молекулярному шарі та зовнішньо зернистому шарі. Середня довжина коротких волокон радіальної глії становила $173,7 \pm 7,8 \text{ мкм}$, довгих - $340,7 \pm 15,1 \text{ мкм}$ (див. рис. 4 В, Г).

При дослідженні експресії синаптофізину у даному віці спостерігали присутність експресії клітин в усіх

шарах мозочка (рис. 5).

Таким чином, у процесі дослідження, нами були встановлені макрометричні параметри півкуль мозочка, а також особливості цитоархітекtonіки та морфометричних параметрів структур півкуль мозочка плодів людини 39-40 тиж. внутрішньоутробного розвитку.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. У 39-40 тиж. на верхній і нижній поверхні півкуль мозочка і черв'яка спостерігаються поперечні борозни, котрі проходять через півкулі і черв'як, утворюючи листки мозочка. Сформована глибока горизонтальна борозна.

2. У півкулях мозочка чітко розрізняються 2 шари: біла речовина і кірковий шар. Найбільшу щільність нейральних стовбурових клітин спостерігали у зовнішньо зернистому шарі ($272,0 \pm 12,5$ клітин на $0,01 \text{ мм}^2$). Найменшу щільність клітин спостерігали в молекулярній зоні ($27,0 \pm 1,2$ клітин на $0,01 \text{ мм}^2$). Найбільшу товщину мала біла речовина мозочка ($8762,4 \pm 420,6 \text{ мкм}$), найменшу - молекулярний шар ($35,6 \pm 1,5 \text{ мкм}$).

3. Встановлена найбільша проліферація клітин у внутрішньозернистому шарі мозочка, та найменша - у білій речовині. Експресія синаптофізину виявлена в усіх шарах мозочка.

4. Волокна радіальної глії спостерігаються у всіх шарах. Відносно помірну експресію віментину у волокнах радіальної глії спостерігали у білій речовині та відносно сильну - у молекулярному шарі та зовнішньо зернистому шарі. Середня довжина волокон радіальної глії становила: коротких - $173,7 \pm 8,4 \text{ мкм}$, довгих - $340,7 \pm 13,9 \text{ мкм}$.

Подальші дослідження передбачають встановлення закономірностей розташування шарів білої та сірої речовини мозочка людини у пренатальному періоді із застосуванням імуногістохімічних методик.

Список посилань

1. Бондаренко, Н.Н., (2003). Региональные нормативы фетометрических показателей. *Пренатальна діагнос-*

тика, 2(1), 7-9.

2. Демидов, В.Н., Бычков, П.А., & Логвиненко, А.В. (1987), Возможности

использования ультразвуковой фетометрии в определении массы плода в III триместре беременности.

- Вопр. охр. мат.* 6, 45-48.
3. Луцай, Е.Д., & Железнов, Л.М. (2012). Интенсивность роста соматометрических параметров плода в разные периоды пренатального онтогенеза. *Астраханский медицинский журнал*, 7(4), 168-170.
4. Пат. u2016 07526 Україна, МПК А61В 5/107. Спосіб визначення мікрOMETричних параметрів структур мозочка /В. С. Школьніков, Л. Л. Залевський, П.О. Стельмащук, В.О. Тихолаз - заявл. 25.11.2016; опубл. 27.04.2015, Бюл. №8.
5. Стрижаков, А.Н., & Медведев, М.В. (1991). Новые направления ультразвуковой диагностики в перинатальной медицине. *Акушерство и гинекология*, 1, 75-77.
6. Abraham, H., & Tornoczky, T. (2001). Cell formation in the cortical layers of the developing human cerebellum. *Int. J. Devl. Neuroscience*, 19, 53-62.
7. Fei, L., & Zhonghe, Z. (2011). Development of the human fetal cerebellum in the second trimester: a post mortem magnetic resonance imaging evaluation. *Published online*, 219(5), 582-588.
8. Rakic, P., & Sidman, L. (2004). Histogenesis of cortical layers in human cerebellum, particularly the lamina dissecans. *Version of Record online*, 10(1002), 473-500.
9. Yamaguchi, K., & Goto, N. (1997). Three-dimensional structure of the human cerebellar dentate nucleus: a computerized reconstruction study. *Anat Embryol*, 196(4), 343.

Школьніков В.С., Залевський Л.Л.

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ МОЗЖЕЧКА ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА 39-40 НЕДЕЛЬ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

Резюме. В ходе исследования установлены макрометрические параметры полушарий и червя мозжечка плодов человека 39-40 недель, а также структурная организация, морфометрические параметры структур мозжечка и морфология радиальной глии.

Ключевые слова: полушария мозжечка, червь мозжечка, морфометрические параметры, внутриутробное развитие, радиальная глиа.

Shkolnikov V.S., Zalevskiy L.L.

STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE CEREBELLUM OF HUMAN FETUSES OF 39-40 WEEKS OF INTRAUTERINE DEVELOPMENT

Summary. The study established micrometrical parameters of the hemispheres and of the worm of cerebellum human fetuses of 39-40 weeks, as well as structural organization, morphometric parameters of the structures of the cerebellum and the morphology of radial glia.

Key words: cerebellar hemispheres, the worm of the cerebellum, morphometric parameters, fetal development, radial glia.

Рецензент - д.мед.н., проф. Костюк Г.Я.

Стаття надійшла до редакції 30.05.2017

Школьніков Володимир Семенович - д. мед. н., доцент кафедри анатомії людини ВНМУ ім.М.І.Пирогова; +38(0432)533518
Залевський Леонід Леонідович - асистент кафедри анатомії людини ВНМУ ім. М.І. Пирогова; +38(0432)533518