

© Тихолаз В.О.

УДК: 611.818.013

Тихолаз В.О.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра анатомії людини (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

ЗАКОНОМІРНОСТІ МОРФОГЕНЕЗУ ПОДВІЙНОГО ЯДРА В ПРЕНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ

Резюме. У роботі представлені результати дослідження структури та морфометричних параметрів подвійного ядра довгастого мозку у ембріонів та плодів людини віком від 6 до 40 тижнів внутрішньоутробного розвитку. Встановлено закономірності змін форми, структури, клітинного складу подвійного ядра у внутрішньоутробному періоді розвитку. Проаналізовано тенденції змін середньої площі нервових клітин та середньої площі ядер нервових клітин подвійного ядра в різні вікові періоди розвитку ембріона та плода.

Ключові слова: пренатальний онтогенез, подвійне ядро, морфогенез, морфометричні параметри, цитометричні параметри.

Вступ

Подвійне ядро класично вважається спеціалізованим вісцеральним еферентним ядром, утвореним руховими нейронами, аксони яких в складі XII, X пар, а також черепної частини XI пари черепних нервів прямують до м'язів м'якого піднебіння, глотки, гортані, до поперечно посмугованих м'язів верхньої частини стравоходу і забезпечують іннервацію відповідних скелетних м'язів бронхіогенного походження [1, 2, 3].

Ціла низка наукових праць, присвячених ранньому дослідженню ембріонального розвитку подвійного ядра у різних тварин [4, 8, 9]. У більш пізніх дослідженнях науковці вивчали ембріональний розвиток та походження його клітин [5, 6, 7, 10]. У доступній науковій літературі мало досліджень, які стосуються гістоструктури та морфометричних параметрів подвійного ядра у плодів людини. Так, Braun J.W. (1990) в ранніх періодах онтогенезу (до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку) описав клітинний склад даного ядра у ембріонів та плодів людини і висловив припущення стосовно шляхів міграції клітин при формуванні подвійного ядра [3].

Більш глибоке розуміння походження і диференціювання нейронів довгастого мозку сприятиме розумінню функціонального значення різноманітних нейронних комплексів, в тому числі, і подвійного ядра. Крім того, викликає інтерес, з'ясувати, чи є зв'язок між розвитком та диференціюванням нейронів подвійного ядра

і появою рефлексів під час внутрішньоутробного періоду розвитку, за участю м'язів глотки і гортані, для яких вони є ефекторними органами.

Метою нашого дослідження є встановлення структури, морфометричних та цитометричних параметрів подвійного ядра довгастого мозку у ембріонів та плодів людини різного гестаційного віку.

Матеріали та методи

Проведено морфологічне та гістологічне 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-п'яtkової довжини (ТКД).

Матеріал для дослідження був отриманий після переривання вагітності, вади розвитку ЦНС були відсутні. Також дослідження виконано на мертвонароджених, 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. Вінниця. Отримані препарати фіксували 10% нейтральним розчином формальдегіду, готували з них целуїдинові та парафінові блоки. В наступному виконували серійні зрізи

Таблиця 1. Розподіл ембріонів та плодів людини за віковими групами.

Вік, тиж.	Кількість	ТКД, мм
6-7	10	18,2±2,4
8-9	15	45,2±3,1
10-11	21	72,1±3,2
12-13	24	81,2±3,5
14-15	28	119,0±4,7
17-18	14	154,3±4,9
20-21	17	202,8±5,4
22-23	13	234,4±7,8
25-26	18	257,3±10,2
28-29	17	298,1±12,7
30-31	10	307,1±12,2
33-34	15	337,3±13,3
37-38	16	352,3±16,1
39-40	12	374,5±19,2
Всього:	230	-

головного мозку, товщиною 6-8 мкм, які забарвлювали гематоксилін-еозином, толуїдиновим синім та за Ван-Гізон.

Мікроскопію і фотографування препаратів проводили з використанням мікроскопів Unico G380, МБС-9, відеозахват виконували камерою Trek. Під час морфометричного дослідження застосовували комп'ютерну гістометрію (TourView). Цифрові дані були опрацьовані статистично. Матеріали дослідження не суперечать основним біоетичним нормам Гельсінської декларації прийнятої 59 Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації у 2008 році.

Результати. Обговорення

У ембріонів 6-7 тижнів внутрішньоутробного розвитку подвійне ядро не визначаються (рис. 1А). В типо-

вому місці розташування подвійного ядра виявлені нейробласти (рис. 1Б), які мають кулясту або овальну форму. Середня площа клітини становить $20,4 \pm 0,4$ мкм², а їх розміри - $4,6 \pm 0,1$ x $4,4 \pm 0,1$ мкм.

У плодів 8-9 тижнів подвійне ядро займає в довгастому мозку типове місце розташування: вентролатеральне положення на середині відстані між спинномозковим ядром трійчастого нерву та нижнім оливним комплексом. В даний віковому періоді встановлена різна форма подвійного ядра: куляста, овальна та підковоподібна (рис. 2А).

Як в каудальній, так і в ростральній частинах дефінитивне подвійне ядро представлене групами більших за розміром нейробластів, які містять базofilні ядра з кількома хромоцентрами та групою менших за розміром клітин, ядра яких інтенсивно гомогенно забарвлені. Популяція менших за розміром нейробластів займає основну частину подвійного ядра (рис. 2Б). Дані нервові клітини містять лише ледь помітну облямівку цитоплазми, тому за гістологічною класифікацією нейронів по типу забарвлення їх можна віднести до цитохромних нейробластів, вони є менш диференційованими нервовими клітинами. У подвійному ядрі плодів людини 8-9 тижнів внутрішньоутробного розвитку виявлено від 8 до 14 нейробластів, ядерно-цитоплазматичне відношення яких наближується до 1, за гістологічною класифікацією їх відносять до каріохромних нейробластів, вони є більш диференційованими нервовими клітинами.

У плодів людини 12-13 тижнів гестації встановлено більший вміст в подвійному ядрі каріохромних та менший вміст цитохромних нейробластів, порівняно з попередньою віковою групою. Така ж тенденція зберігається і в наступних вікових групах, крім того, поступово з кожною віковою групою стає більшим об'єм цитоплазми порівняно з об'ємом ядра в нейробластах подвійного ядра, каріохромні клітини перетворюються на соматохромні, стають ще більш диференційовани-

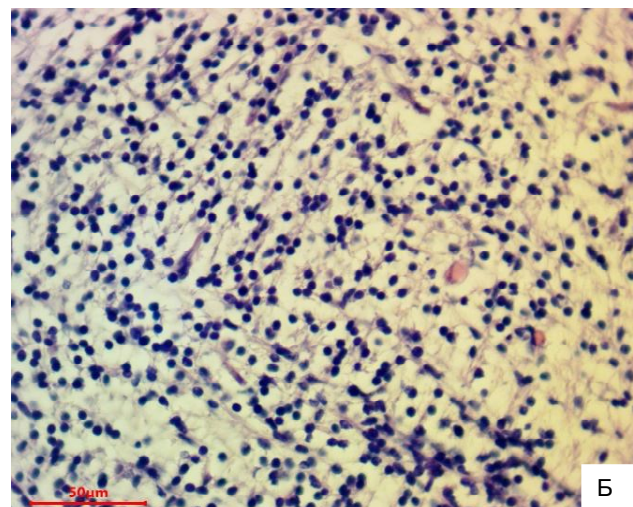
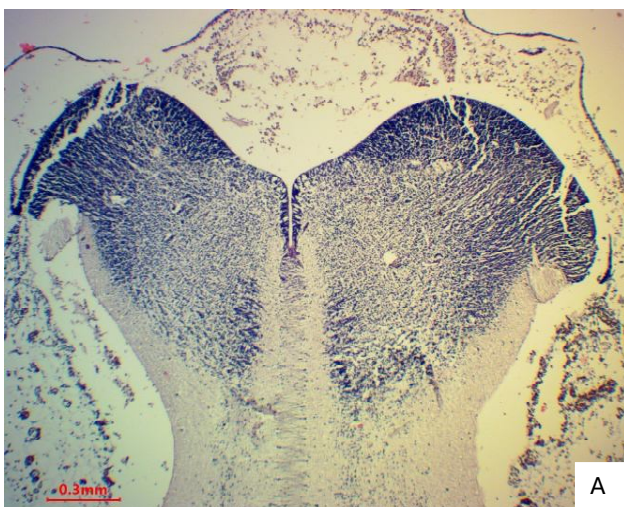


Рис. 1. А. Горизонтальний зріз довгастого мозку ембріона людини 6-7 тиж. Гематоксилін-еозин. х40. Б - нейробласти в місці проекції подвійного ядра. Гематоксилін-еозин. х400.

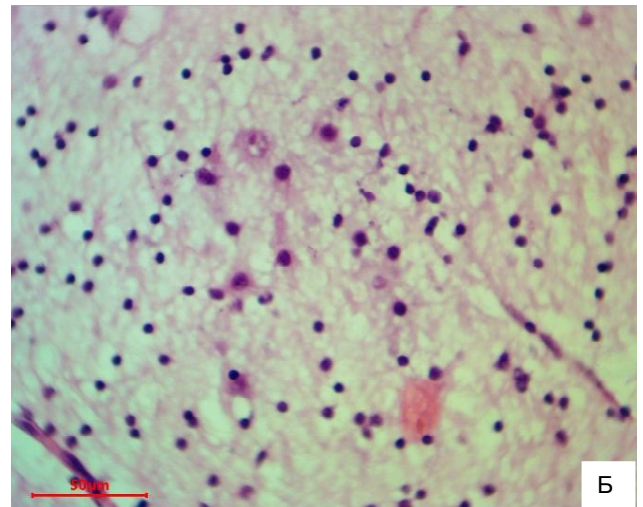
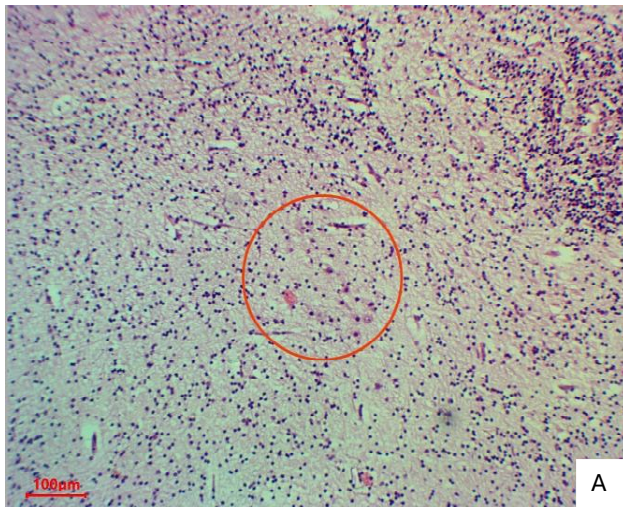


Рис. 2. А. Подвійне ядро довгастого мозку плода людини 8-9 тиж. Гематоксилін-еозин. x100. Б - нервові клітини та клітини глії подвійного ядра плода людини 8-9 тиж. Гематоксилін-еозин. x400.

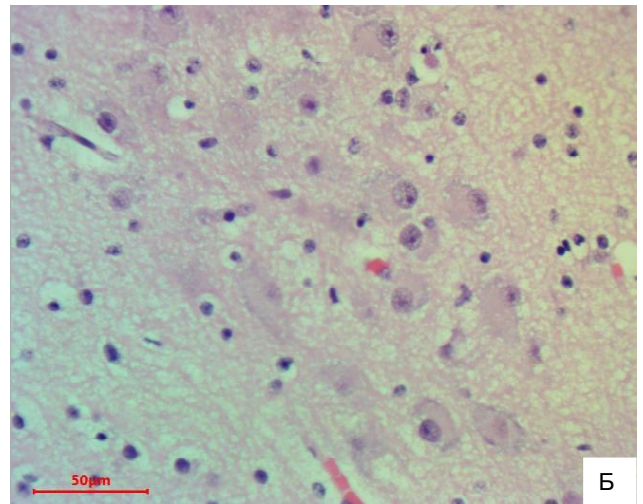
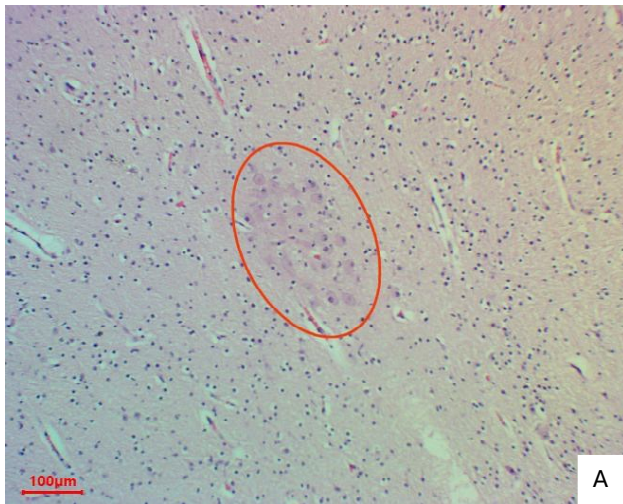


Рис. 3. А. Подвійне ядро довгастого мозку плода людини 14-15 тиж. Гематоксилін-еозин. x100. Б - нервові клітини та клітини глії подвійного ядра плода людини 14-15 тиж. Гематоксилін-еозин. x400.

ми (ядерно цитоплазматичне відношення менше 1).

У плодів людини з 12-13 тижнів і до 17-18 тижнів встановлено зміну щільності розташування клітин в ро-стральній та каудальній частині подвійного ядра. Так у плодів людини 12-13 тижнів щільність розташування соматохромних нейроblastів більша в ростральній частині, у плодів 14-15 тижнів в каудальній частині, а у плодів людини 17-18 тижнів гестації щільність нейроblastів однакова в ростральній та каудальній частинах подвійного ядра.

Подвійне ядро у плодів людини 14-15, 17-18 тижнів гестації неправильної або овальної форми, з дещо звуженою ростральною та розширеною каудальною частиною ядра (рис. 3А). Основну частину ядра заповнюють більш диференційовані нейроblastи, які містять велике слабо забарвлене ядро з одним великим ядерцем, в перикаріоні розташовуються смужки речовини Нісля (рис. 3Б).

Подвійне ядро у плодів людини 22-23 тижнів представлено нейроblastами, які порівняно з клітинами у

плодів попередніх гестаційних груп змінюють форму з кулястої або овальної на полігональну (рис. 4Б). Щільність розташування нейронів також менша, порівняно з аналогічними показниками у плодів 14-15 тижнів внутрішньоутробного розвитку (рис. 4А). В ядрах нервових клітин визначаються ядерце та гетерохроматин, в цитоплазмі - речовина Нісля.

У плодів людини 25-26, 28-29 тижнів нервові клітини подвійного ядра за формою не відрізняються від нейроblastів подвійного ядра плодів людини 22-23 тижнів внутрішньоутробного розвитку. З кожною віковою групою стає меншою щільність розташування нервових клітин, та більшим вміст у цитоплазмі речовини Нісля.

Подвійне ядро у плодів 34-35, 37-38, 39-40 тижнів немає чітких контурів та визначеної форми і представлено багатокутними нейронами (рис. 5А). В перикаріоні візуалізується аксональний горбик. Від тіла нейрона відходять відростки різних розмірів.

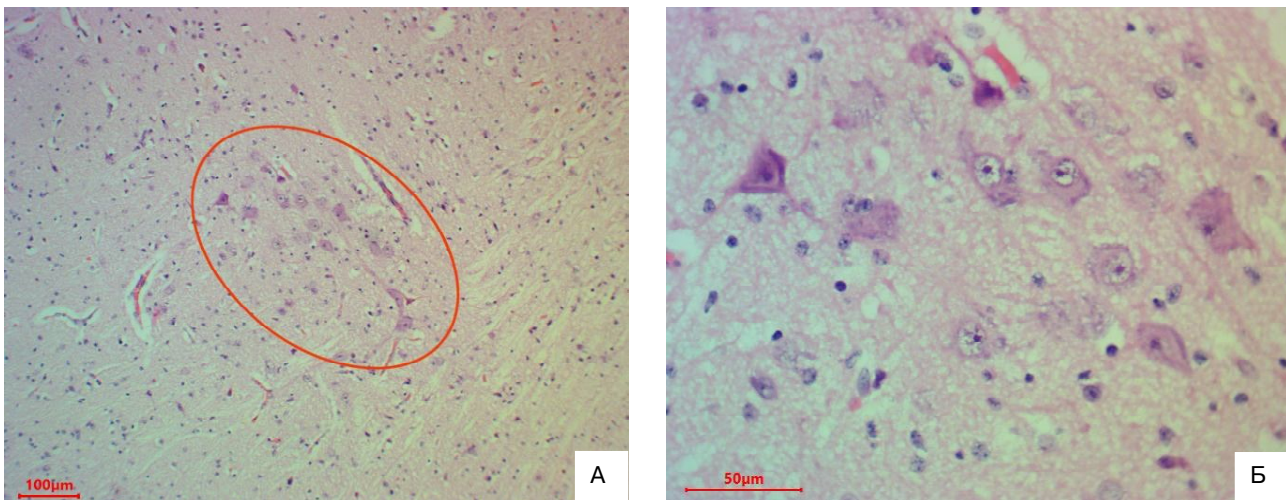


Рис. 4. А. Подвійне ядро довгастого мозку плода людини 22-23 тиж. Гематоксилін-еозин. х100. Б - нервові клітини та клітини глії подвійного ядра плода людини 22-23 тиж. Гематоксилін-еозин. х400.

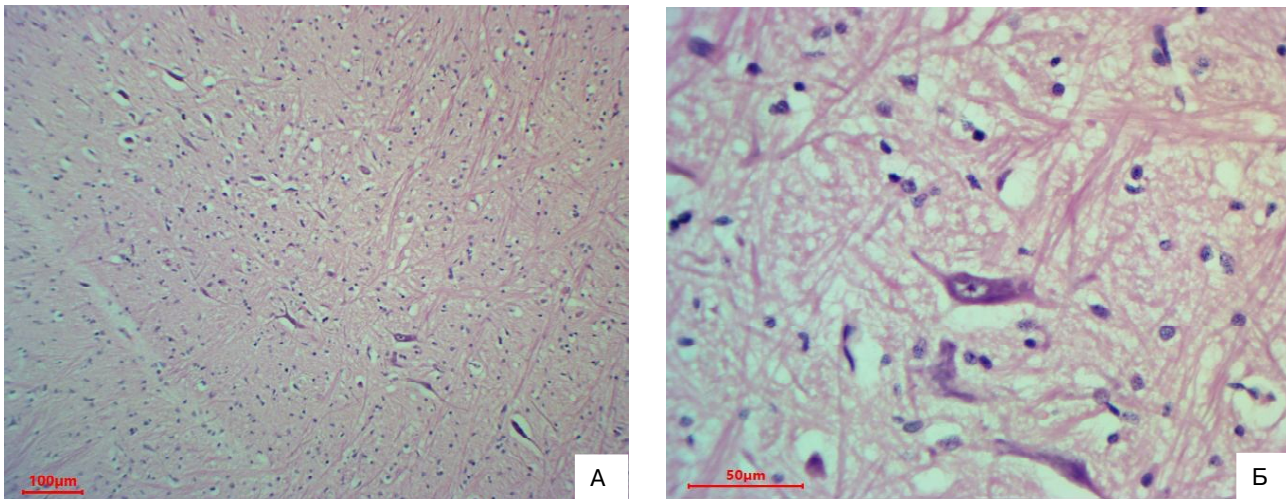


Рис. 5. А. Подвійне ядро довгастого мозку плода людини 39-40 тиж. Гематоксилін-еозин. х100. Б - нервові клітини та клітини глії подвійного ядра плода людини 39-40 тиж. Гематоксилін-еозин. х400.

У плодів людини 37-38 тижнів внутрішньоутробного розвитку в подвійному ядрі поряд з полігональними нейронами з'являються веретеноподібні нервові клітини. Кількість веретеноподібних нервових клітин стає більшою у плодів 39-40 тижнів внутрішньоутробного розвитку (рис. 5Б).

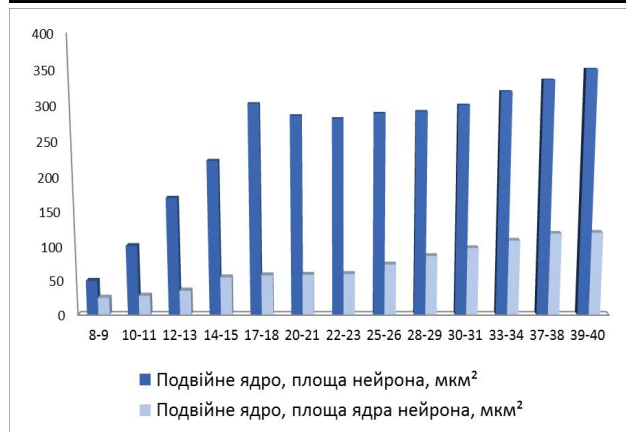
Під час морфометричного дослідження встановлено на $0,01 \text{ мм}^2$ достовірно більше значення площі подвійного ядра у плодів людини починаючи з 8-9 і до 14-15 тижня внутрішньоутробного розвитку у порівнянні з попередньою віковою групою ($p < 0,01$). У досліджуваних вікових групах були відсутні достовірні відмінності у площі правого та лівого подвійного ядра ($p > 0,05$). У плодів людини 17-18 тижнів внутрішньоутробного розвитку порівняно з плодами 20-21 тижня внутрішньоутробного розвитку у площі подвійного ядра достовірних відмінностей не встановлено. У плодів людини починаючи від 22-23 тижнів і до 30-31 тижня внутрішньоутробного розвитку встановлено достовірно більше зна-

чення площі правого подвійного ядра відповідно на $0,03 \text{ мм}^2$, $0,03 \text{ мм}^2$, $0,04 \text{ мм}^2$, $0,06 \text{ мм}^2$, лівого - на $0,02 \text{ мм}^2$, $0,03 \text{ мм}^2$, $0,03 \text{ мм}^2$, $0,05 \text{ мм}^2$ порівняно з плодами попередніх вікових груп ($p < 0,01$). Встановлені достовірно більші значення площі правого подвійного ядра порівняно з лівим у плодів людини з 22-23 тижня і до 30-31 тижня ($p < 0,05$). Починаючи з 33 тижня внутрішньоутробного розвитку чітких контурів подвійного ядра визначити не вдалось (табл. 2).

Під час цитометричного дослідження встановлено в 2 рази достовірно більші значення середньої площі нейробластів подвійного ядра у плодів 10-11 тижнів, в 3,4 рази достовірно більші значення середньої площі нейробластів подвійного ядра у плодів 12-13 тижнів, в 4,4 рази достовірно більші значення середньої площі нейробластів подвійного ядра у плодів 14-15 тижнів та в 6 раз достовірно більші значення середньої площі нейробластів подвійного ядра у плодів 17-18 тижнів порівняно з плодами 8-9 тижнів внутрішньоутробного

Таблиця 2. Площа подвійного ядра у плодів людини різних вікових груп.

Вік, тиж.	Площа подвійного ядра, мм ²	
	Праве ядро	Ліве ядро
8-9	0,01±0,0004	0,01±0,0003
10-11	0,02±0,0006	0,02±0,0001
12-13	0,03±0,0009	0,03±0,0005
14-15	0,04±0,001	0,04±0,001
17-18	0,05±0,001	0,03±0,001
20-21	0,05±0,002	0,04±0,002
22-23	0,08±0,002	0,06±0,002
25-26	0,11±0,002	0,09±0,002
28-29	0,15±0,002	0,12±0,002
30-31	0,21±0,02	0,18±0,02

**Рис. 6.** Діаграма розподілу середньої площі нейронів та ядра нейрона у плодів людини різних вікових груп.

розвитку ($p < 0,01$). Також встановлені достовірні відмінності середньої площі нейробластів подвійного ядра між усіма вищенаведеними віковими групами ($p < 0,01$). У плодів людини з 17-18 по 30-31 тиждень достовірних відмінностей у середній площі нервових клітин не виявлено ($p > 0,05$). У плодів людини 33-34, 37-38, 39-40 тижнів внутрішньоутробного розвитку виявлені достовірні відмінності середньої площі нервових клітин з віковими групами з 17-18 по 30-31 тиждень ($p < 0,05$) та групами з 8-9 по 17-18 тиждень ($p < 0,01$).

Отже встановлено тенденцію до швидкого зростання середньої площі нейронів з 8-9 до 17-18 тижнів внутрішньоутробного розвитку, стабілізація з 17-18 по 30-31 тиждень та повільне зростання з 30-31 до 39-40 тижнів внутрішньоутробного розвитку (рис. 6).

Достовірних відмінностей середньої площі ядер нервових клітин між віковими групами плодів 8-9 та 10-11 тижнів, між віковими групами плодів 14-15, 17-18, 20-21, 22-23 тижнів, а також між віковими групами плодів 37-38 та 39-40 тижнів не виявлено ($p > 0,05$). Встановлено достовірне більше значення середньої площі ядер нейробластів у плодів 14-15 тижнів порівняно з плодами 8-9 та 10-11 тижнів, а також у плодів 14-15,

17-18, 20-21, 22-23 порівняно з плодами попередніх вікових груп ($p < 0,01$). Встановлено достовірне більше значення середньої площі ядер нервових клітин між віковими групами плодів 25-26, 28-29, 30-31, 33-34 та 39-40 тижнів, а також між даними віковими групами і молодшими віковими групами плодів.

Отже встановлено тенденцію до зростання середньої площі ядер нейронів з 10-11 до 14-15 тижнів внутрішньоутробного розвитку, стабілізація з 14-15 по 22-23 тиждень та зростання з 22-23 до 37-38 тижня внутрішньоутробного розвитку (рис. 6).

Структура подвійного ядра в ранньому пренатальному періоді розвитку людини була описана в наукових працях Brown J.W. [3]. В нашому дослідженні встановлено появу чітко відмежованого подвійного ядра у плодів людини 8-9 тижнів внутрішньоутробного розвитку, що підтверджується і в роботах Brown J.W., який встановив формування рostrальної частини ядра у плодів людини 8 тижнів і каудальної частини ядра у плодів людини 9 тижнів внутрішньоутробного розвитку. Також узгоджується з дослідженнями Brown J.W. поява перших нервових клітин, які мають гістологічні ознаки зрілих нейронів у плодів людини з 10 тижня внутрішньоутробного розвитку та роstrо-каудальний градієнт розвитку даного ядра.

Проте, в доступній науковій літературі, відсутні відомості стосовно закономірностей зміни площі подвійного ядра, форми та розмірів нейробластів, які утворюють дане ядро та морфометричні параметри ядер нервових клітин в різні вікові періоди пренатального онтогенезу людини. Тому порівняти отримані дані з уже відомими немає можливості.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Тенденція до прискорення темпів збільшення площі подвійного ядра встановлена у плодів людини з 22-23 по 30-31 тиждень внутрішньоутробного розвитку.

2. Встановлено збільшення кількості каріо- та соматохромних нейронів у плодів з кожної вікової групи з 8-9 по 17-18 тижнів та зменшення щільності їх розташування з 17-18 по 39-40 тижнів внутрішньоутробного розвитку.

3. Виявлено зміни форми нейробластів подвійного ядра з кулястої у плодів з 8-9 по 17-18 тиждень, появу та збільшення кількості полігональних нервових клітин з 17-18 тижня, появу та збільшення кількості веретеноподібних нервових клітин у плодів 37-38 та 39-40 тижнів гестації.

4. Встановлено тенденцію до швидкого зростання середньої площі нейронів подвійного ядра з 8-9 до 17-18 тижнів внутрішньоутробного розвитку, стабілізація з 17-18 по 30-31 тиждень та повільне зростання з 30-31 до 39-40 тижня внутрішньоутробного розвитку.

5. Виявлено тенденцію до зростання середньої площі ядер нейронів з 10-11 до 14-15 тижнів внутрішньоутробного розвитку, стабілізація з 14-15 по 22-23 тиж-

день та зростання з 22-23 до 37-38 тижня внутрішньо-
утробного розвитку.

У перспективі подальших розробок планується вста-

новити закономірності пренатального розвитку под-
війного ядра за допомогою експресії імунно-гістохіміч-
них маркерів.

Список літератури

1. Bieger D. Viscerotopic representation of the upper alimentary tract in the medulla oblongata in the rat: the nucleus ambiguus /D. Bieger, D. A. Hopkins//J. of Comparative Neurology. - 1987. - Vol.262. - P.546-562.
2. Brown J.W. Prenatal development of the human nucleus ambiguus during the embryonic and early fetal periods /J.W. Brown //Am. J. Anat. - 1990. - Vol.189. - P.267-283.
3. Grelot L. Central distributions of the efferent and afferent components of the pharyngeal branches of the vagus and glossopharyngeal nerves: an HRP study in the cat /L. Grelot, J.C. Barillot, A.L. Bianchi //Exp. Brain Res. - 1989. - Vol.78. - P.327-335.
4. Kimmel D.L. Differentiation of the bulbar motor nuclei and the coincident development of associated root fibers in the rabbit /D.L. Kimmel //J. Comp. Neurol. - 1940. - Vol.72. - P.83-148.
5. McConnell J.A. Identification of early neurons in the brainstem and spinal cord An autoradiographic study in the mouse /J.A. McConnell //J. Comp. Neural. - 1981. - Vol.200. - P.273-288.
6. Shaw M.D. Generation of motoneurons in the rabbit brainstem /M.D. Shaw, K.E. Alley - 1982. - Vol.207. - P.203-207.
7. Vinay L. Perinatal development of the motor systems involved in postural control /L. Vinay, F. Ben-Mabrouk, F. Brocard [et al.] //Neural Plast. - 2005. - Vol.12. - P.263-272.
8. Windle W.F. The first neurofibrillar development in albino rat embryos /W.F. Windle, R.E. Baxter //J. Comp. Neurol. - 1936. - Vol. 63. - P. 173-187.
9. Windle W.F. Neurofibrillar development in the central nervous system of cat embryos between 8 and 12 mm long /W.F. Windle //J. Comp. Neurol. - 1933. - Vol.58. - P. 643-723.
10. Zec N. Expression of the homeobox-containing genes EN1 and EN2 in human fetal midgestational medulla and cerebellum /N. Zec D.H. Rowitch, M.J. Bitgood [etal.] //J. Neuropathol Exp Neurol. - 1997. - Vol.56. - P.236-242.

Тихолаз В.А.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ МОРФОГЕНЕЗА ДВОЙНОГО ЯДРА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА

Резюме. В работе представлены результаты исследования структуры и морфометрических параметров двойного ядра продолговатого мозга у эмбрионов и плодов человека в возрасте от 6 до 40 недель внутриутробного развития. Установлены закономерности изменений формы, структуры, клеточного состава двойного ядра во внутриутробном периоде развития. Проанализированы тенденции изменений средней площади нервных клеток и средней площади ядер нервных клеток двойного ядра в различные возрастные периоды развития эмбриона и плода.

Ключевые слова: пренатальный онтогенез, двойное ядро, морфогенез, морфометрические параметры, цитометрические параметры.

Tyholaz V.O.

PATTERNS MORPHOGENESIS OF NUCLEUS AMBIGUUS IN THE PRENATAL PERIOD OF HUMAN ONTOGENESIS

Summary. The paper presents the results of studies of the structure and morphometric parameters of nucleus ambiguus in human embryos and fetuses aged 6 to 40 weeks of fetal development. The regularities change shape, structure, cellular structure of nucleus ambiguus in the prenatal period of development. Analyzes trends in the average area of nerve cells and the average area of the nuclei of nerve cells nucleus ambiguus in different age periods of development of the embryo and fetus.

Key words: prenatal ontogenesis, nucleus ambiguus, morphogenesis, morphometric parameters, cytometric parameters.

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

Стаття надійшла до редакції 9.09.2016р.

Тихолаз Віталій Олександрович - к.мед.н., доцент, завідувач кафедри анатомії людини ВНМУ ім. М.І. Пирогова, tikholaz.vo@gmail.com, +38(063)3188516