
© Школьніков В.С., Стельмащук П.О.

УДК: 611.813-053.13

Школьніков В.С., Стельмащук П.О.

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

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ КІНЦЕВОГО МОЗКУ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ 7-8 ТИЖНІВ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ

Резюме. Проведено анатомо-гістологічне, імуногістохімічне та морфометричне дослідження півкуль головного мозку 12 плодів людини гестаційним терміном - 7-8 тижнів. Біла та сіра речовини півкуль головного мозку має характерне розташування клітин у 5 шарів. Загальна товщина нерівномірна в залежності від частки головного мозку. Експресія Ki-67 визначається у вигляді тонкої смужки протягом усієї вентрикулярної зони, що є свідченням того, що вентрикулярна зона є початковою у формуванні майбутніх нейральних клітин, а також клітин радіальної глії. Волокна радіальної глії починаються від базальної мембрани вентрикулярної зони, пронизують субвентрикулярну зону у радіальному напрямку та доходять до крайової зони. Експресія синаптофізину, як маркеру розвитку постсинаптичних мембран була повністю відсутня протягом усієї вентрикулярної зони півкуль мозку, водночас сильна експресія спостерігалася у проміжній та кірковій зоні.

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

Вступ

Ембріональний період розвитку ЦНС є коротким у часовому періоді. Проте, у даному періоді онтогенезу людини відбувається інтенсивний поділ нейральних стовбурових клітин (НСК), після чого здійснюється міграція клітин вздовж волокон радіальної глії, внасл-

ідок чого формуються відділи головного мозку. Проблема вивчення та поділу нейральних стовбурових клітин є також актуальною у галузі нейрології та нейрохірургії [5].

У сучасній літературі існують прогалини, що опису-

ють особливості формування кори головного мозку людей в ранніх термінах гестаційного віку людини.

Більшість досліджень, у яких підіймалося питання щодо вивчення ранніх етапів розвитку структур центральної нервової системи, проводились на піддослідних тваринах. Зокрема, зустрічаються дані досліджень розвитку міграції нервових клітин на ранніх термінах гестаційного віку щурів у працях Є. П. Матвеевої [2] та Д. К. Обухова [3].

На сучасному етапі досліджень особлива увага акцентується на нейральних стовбурових клітинах, які мають подвійне значення, як у розвитку нормальних клітин нервової системи [1], так і відіграють важливу роль у розвитку патологічних клітин [6]. Сучасними методами дослідження є використання імуногістохімічних маркерів для візуалізації окремих процесів розвитку та специфічних клітин [13].

Метою дослідження є встановлення макрометричних параметрів півкуль головного мозку, а також цитохітотоніки та морфометричних параметрів структур лобової, тім'яної та потиличної часток плодів людини 7-8 тижнів внутрішньоутробного розвитку.

Матеріали та методи

Проведено анатомо-гістологічне, імуногістохімічне та морфометричне дослідження півкуль головного мозку 12 плодів людини гестаційним терміном - 7-8 тижнів, які були отримані у результаті пізнього абортів в Обласному патологоанатомічному бюро м. Вінниці. Вроджені аномалії ЦНС відсутні. Тім'яно-куприкова довжина (ТКД) становила $31,4 \pm 2,6$ мм, маса - $2,8 \pm 0,4$ г (рис. 1).

Отриманий матеріал фіксували у розчині 10 % нейтрального формальдегіду, після чого виготовляли парафінові та целоїдинові блоки. Після приготування серійних зрізів півкуль головного мозку товщиною 10-12 мкм препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином, толудіновим синім та за Ван-Гізон. Під час імуногістохімічного дослідження були використані діаг-

ностичні моноклональні антитіла фірми "DacoCytomation": віментин (маркер волокон радіальної глії), Ki-67 (визначення характеру мітотичної активності НСК) та синаптофізин (маркер розвитку постсинаптичних мембран).

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

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

Статистичну обробку отриманих морфометричних параметрів здійснювали за допомогою стандартного програмного пакету "Statistica 6.1" фірми StatSoft (належить НДЦ ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний № ВХХR901E246022FA) із застосуванням параметричних і непараметричних критеріїв оцінки отриманих результатів. Визначення відмінностей між вибірками проводили за допомогою U-критерію Мана-Уїтні та t-критерію Стьюдента, а також визначалися середні значення по кожній ознаці та їх стандартні відхилення.

Матеріали дослідження не суперечать основним біоетичним нормам Гельсінської декларації, прийнятої 59-ю Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації у 2008 р. (протокол комісії з біомедичної етики ВНМУ №10 від 27 жовтня 2016 р.).

Результати. Обговорення

Біла та сіра речовини півкуль головного мозку мають характерне розташування клітин у 5 шарів. Загальна товщина нерівномірна в залежності від частки головного мозку. У ділянці проекції лобової частки (ЛЧ) лівої півкулі становить $218,6 \pm 10,7$ мкм та у правій відповідно $205,4 \pm 10,6$ мкм У проекції тім'яної частки (ТЧ) лівої півкулі відмічалася найбільша товщина яка склала $600,4 \pm 23,4$ мкм та $634,0 \pm 24,2$ мкм правої. У ділянці потиличної частки (ПЧ) товщина лівої півкулі дорівню-



Рис. 1. Загальний вигляд плоду людини 7-8 тижнів внутрішньоутробного розвитку. ТКД - 29,0 мм.



Рис. 2. Горизонтальний перетин головного мозку плоду людини 7-8 тижнів на рівні середньої лобової звивини. Фарб. Гематоксилін-еозин; 3б. хб.

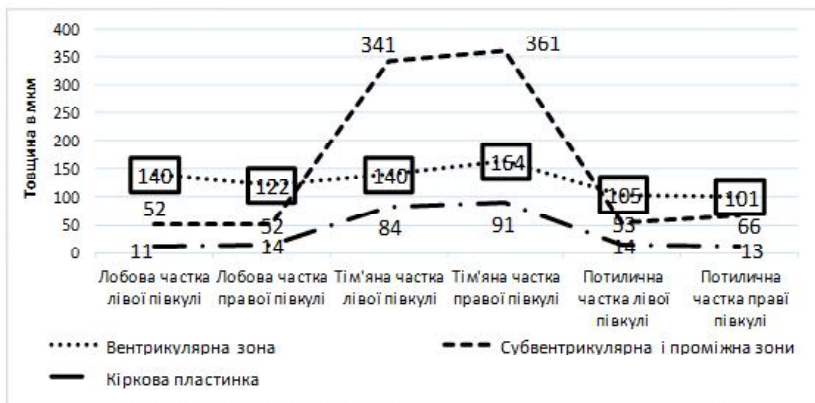


Рис. 3. Розподіл товщини шарів півкуль головного мозку.

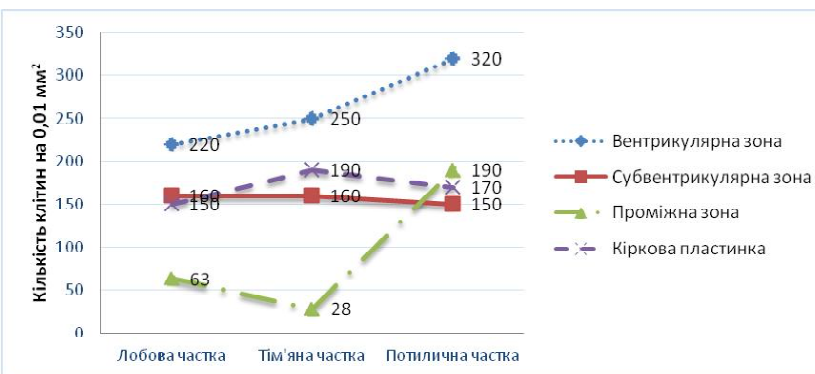


Рис. 4. Розподіл щільності клітин у шарах півкуль головного мозку.

вала $186,3 \pm 8,8$ мкм та $202,3 \pm 9,0$ мкм - правої.

На горизонтальних перетинах кінцевого мозку плодів людини візуалізуються порожнини усіх чотирьох шлуночків та відмічається розвиток судинних сплеть у бічних шлуночках головного мозку (рис. 2). Отримані нами дані щодо характеру розвитку судинних сплеть співпадають з подібними дослідженнями плодів людини, проведеними F. Müller та R. O'Rahilly [10, 9]. Також при вивченні головного мозку за допомогою УЗД дослідження Voitor-Borza D. [7] вказують на наявність судинного сплетення у бічних шлуночках.

Що стосується товщини окремих шарів звивин ло-

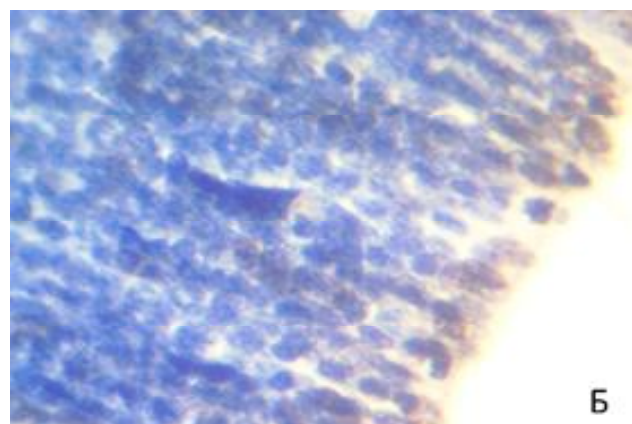


Рис. 5. Зріз головного мозку людини гестаційним терміном 7-8 тижнів у горизонтальній площині. А - загальний вигляд Фарб. Кі-67. 36. x100. Б - проліферація клітин у вентрикулярній зоні. Фарб. Кі-67. 36. x400

бової частки обох півкуль, то нами були отримані наступні результати: товщина вентрикулярної зони лівої півкулі в ділянці ЛЧ - $140,4 \pm 7,0$ мкм, ТЧ - $140,5 \pm 6,9$ мкм, ПЧ - $105,2 \pm 4,8$ мкм.

Аналогічні морфометричні параметри правої півкулі: ЛЧ - $122,4 \pm 6,4$ мкм, ТЧ - $164,6 \pm 7,9$ мкм та ПЧ - $107,9 \pm 4,1$ мкм.

Товщина кіркової пластинки лівої півкулі становила: ЛЧ - $11,3 \pm 0,6$ мкм, ТЧ - $84,7 \pm 4,2$ мкм, ПЧ - $12,4 \pm 0,6$ мкм. Правої півкулі: ЛЧ - $14,4 \pm 0,7$ мкм, ТЧ - $91,8 \pm 4,7$ мкм, ПЧ - $13,3 \pm 0,6$ мкм.

Загальна товщина проміжної та субвентрикулярної зони ЛЧ лівої півкулі дорівнювала $52,4 \pm 2,6$ мкм, ТЧ - $341,1 \pm 15,3$ мкм, ПЧ - $53,0 \pm 2,5$ мкм. Відповідні параметри правої півкулі склали: ЛЧ - $52,4 \pm 2,4$ мкм, ТЧ - $361,8 \pm 18,5$ мкм, ПЧ - $66,4 \pm 3,1$ мкм. Вищевказані дані відображені графічно (рис. 3).

Неоднорідна щільність клітин спостерігається в різних шарах півкуль головного мозку (рис. 4). Найбільша щільність НСК нами спостерігалась у вентрикулярній зоні і становила відпо-

відно: у потиличній частці 320 ± 16 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$, у тім'яній частці 250 ± 9 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$, у лобовій частці 220 ± 8 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$.

У субвентрикулярній зоні щільність НСК відповідно була: у потиличній частці 150 ± 4 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$, у тім'яній частці 160 ± 4 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$, у лобовій частці 160 ± 5 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$.

У проміжній зоні щільність нервових клітин була найменшою: у тім'яній частці 28 ± 2 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$, у лобовій частці 63 ± 2 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$, але у потиличній частці 190 ± 6 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$.

Кіркова зона мала наступну щільність клітин: у по-

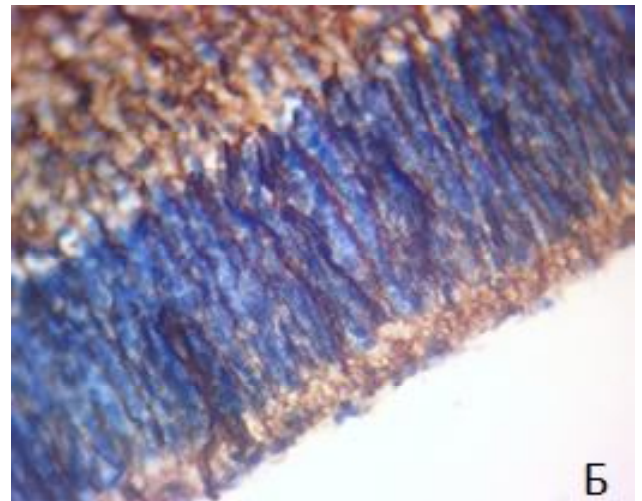
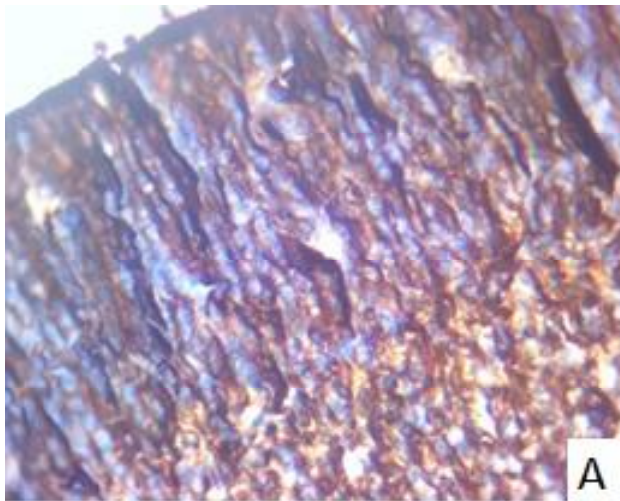


Рис. 6. Характер напрямку волокон радіальної глії. А - вентрикулярна зона. Фарб. Віментин. Зб. x400. Б - крайова зона. Фарб. Віментин. Зб. x400.

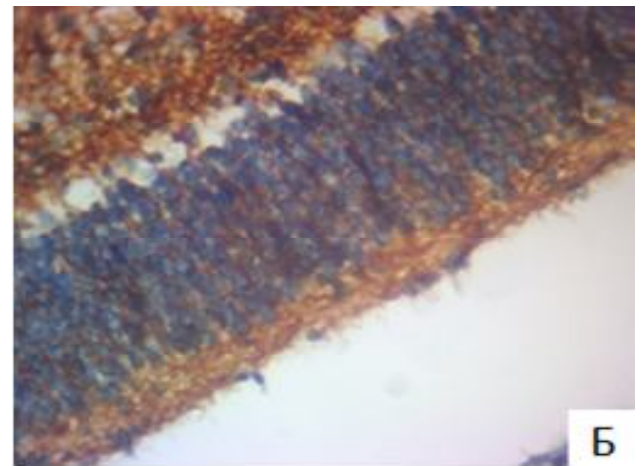
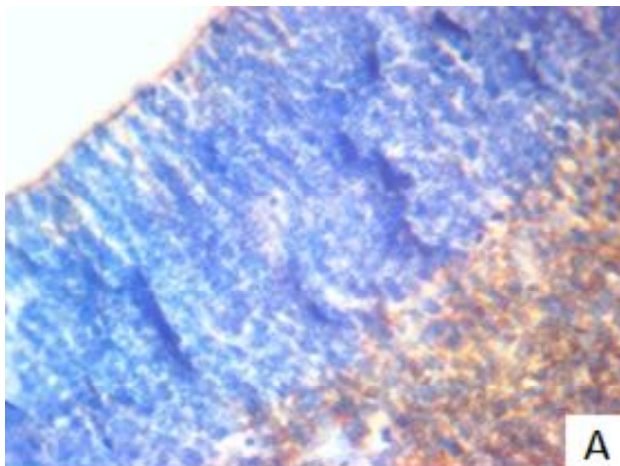


Рис. 7. Характер експресії синаптофізину у лобовій частці головного мозку плода людини 7-8 тижнів. А - вентрикулярна зона Фарб. Синаптофізину Зб. x400. Б - крайова зона. Фарб. Синаптофізин. Зб. x400.

тиличній частці 170 ± 5 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$, у тім'яній частці 190 ± 6 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$ та у лобовій частці 150 ± 4 клітин на $0,01 \text{ мм}^2$.

Експресія Ki-67 визначається у вигляді тонкої смужки протягом усієї вентрикулярної зони, що є свідченням того, що вентрикулярна зона є початковою у формуванні майбутніх нейральних клітин, а також клітин радіальної глії (рис. 5).

У інших шарах експресія Ki-67 спостерігалась слабою, оскільки були присутні поодинокі мітози клітин. Отримані нами дані щодо розташування клітин, які знаходяться у активній фазі проліферації співпадають з даними M. R. Del Bigio, який, досліджуючи геморагічний вплив, акцентує увагу на розташуванні мітотичної зони уздовж всієї вентрикулярної зони у плодів 15 тижнів [8].

Після проліферації НСК у вентрикулярній зоні мігрують уздовж волокон радіальної глії. Відомо, що функціональне призначення волокон радіальної глії полягає в утворенні шляху для направленої міграції нерво-

вих клітин у кіркову зону. Маркером волокон радіальної глії є білок - віментин [11]. Під час дослідження експресії віментину у волокнах радіальної глії утворів кінцевого мозку нами спостерігалася сильною у всіх зонах. Вибір даного імуногістохімічного маркера підтверджується у працях Vinci L. [14], який довів доцільність використання віментину для вивчення розвитку центральної нервової системи, зокрема.

Самі волокна радіальної глії починаються від базальної мембрани вентрикулярної зони, пронизують субвентрикулярну зону у радіальному напрямку та доходять до крайової зони (рис. 6).

Середня довжина волокна радіальної глії коливається від $95,5 \text{ мкм}$ до $132,0 \text{ мкм}$. Для даного періоду онтогенезу волокнам радіальної глії притаманна наявність піку розвитку, яка проявляється зміною товщини півкуль головного мозку.

Експресія синаптофізину, як маркеру розвитку постсинаптичних мембран була повністю відсутня протягом усієї вентрикулярної зони півкуль мозку, водно-

час сильна експресія спостерігалася у проміжній та кірковій зоні (рис. 7). Отримані нами результати мають розбіжності з даними Sarnat H. B., який відмічає наявність імунореактивності синаптофізину у корі лобової частки головного мозку лише з 12 тижня. Sarnat H. B. прийшов до висновку, що синаптофізин є надійним маркером у головному мозку плода людини для об'єктивної оцінки церебрального дозрівання у нормі та дає можливість інтерпретації аномальних синаптичних моделей у патологічних станах [12, 13].

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Найбільша товщина білої та сірої речовини є у проекції тім'яної частки лівої півкулі, яка склала $600,4 \pm 23,4$ мкм та $634,0 \pm 24,2$ мкм правої півкулі.

2. Найбільшу щільність клітин має вентрикулярна (матрична) зона: потиличної частки 320 ± 16 клітин на $0,01$ мм²,

тім'яної частки 250 ± 9 клітин на $0,01$ мм², лобової частки 220 ± 8 клітин на $0,01$ мм². Найменша щільність клітин спостерігалася у проміжній зоні. тім'яної частки 28 ± 2 клітин на $0,01$ мм², лобної частки 63 ± 2 клітин на $0,01$ мм², але у потиличній частці 190 ± 6 клітин на $0,01$ мм².

3. Проліферативна активність нейральних стовбурових клітин була лише у вентрикулярній зоні.

4. Експресія віментину у волокнах радіальної глії спостерігалася сильною в усіх зонах.

5. Експресія синаптофізину є сильною у субвентрикулярній, проміжній, кірковій пластинці та повністю відсутня у вентрикулярній зоні.

Подальші дослідження спрямовані на встановлення закономірностей розташування шарів білої та сірої речовини головного мозку людини у пренатальному періоді із застосуванням імунно-гістохімічних методик та порівняння отриманих даних зі структурною організацією головного мозку плодів із мальформаціями.

Список посилань

- Бельська, Л. М. (2015). Стовбурові клітини пухлин головного мозку: фенотипічна характеристика та методи направленої терапевтичної впливу. *Клітинна та органна трансплантологія*, 3(2), 170-176.
- Матвеева, Е. П., & Рыжавский, Б. Я. (2011). Морфометрические особенности субвентрикулярной зоны мозга новорожденных крыс, различающихся величиной массы мозга и степенью развития неокортекса. *Дальневосточный мед. журнал*, 4, 93.
- Обухов, Д. К., Обухова, Е. В. & Пушина, Е. В. (2012). Современные представления об эволюции конечного мозга позвоночных животных. *Международный журнал экспериментального образования*, 6, 19-21.
- Пат. 98355 Україна, МПК А61В 5/107. Спосіб визначення розмірів півкулі головного мозку у плода людини / Школьников В. С., Тихолаз В. О., Стельмашук П. О., Дацишин П. Т. - заявл. 10.11.2014; опубл. 27.04.2015, Бюл. № 8.
- Цимбалюк, В. І., & Медведєв, В. В., (2011). Нейрогенні стовбурові клітини у неврології та нейрохірургії. *Журн. НАМН України*, 17(1), 76-80.
- Чайковський, Ю. Б., Дельцова, О. І. & Геращенко, С. Б. (2011) Стовбурові клітини головного мозку в постнатальному періоді. *Світ медицини та біології*, 4, 148-153.
- Boitor-Borza, D., Kovacs, T. & Stamatian, F. (2015). Transvaginal three-dimensional sonographic assessment of the embryonic brain: a pilot study. *Clujul Med.*, 88 (2), 152-8.
- Del Bigio, M. R. (2011). Cell proliferation in human ganglionic eminence and suppression after prematurity-associated haemorrhage. *Brain*, 134 (5), 1344-61.
- Müller, F. & O'Rahilly, R. (1990). The human brain at stages 21-23, with particular reference to the cerebral cortical plate and to the development of the cerebellum. *Anat Embryol (Berl)*, 182 (4), 375-400.
- Müller, F. & O'Rahilly, R. (1990). The human brain at stages 18-20, including the choroid plexuses and the amygdaloid and septal nuclei. *Anat Embryol (Berl)*, 182 (3), 285-306.
- Ostrem, B., Lui, J., & Hertz, C. (2014). Control of outer radial glial stem cell mitosis in the human brain. *Cell Rep.*, 8(3), 656-664.
- Sarnat, H. B., & Born, D. E., (1999). Synaptophysin immunocytochemistry with thermal intensification: a marker of terminal axonal maturation in the human fetal nervous system. *Brain Dev.*, 21 (1), 41-50.
- Sarnat, H. B., Flores-Sarnat, L., & Trevenen, C. L. (2010). Synaptophysin immunoreactivity in the human hippocampus and neocortex from 6 to 41 weeks of gestation. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 69 (3), 234-45.
- Vinci, L. (2016). Immunohistochemical Markers of Neural Progenitor Cells in the Early Embryonic Human Cerebral Cortex. *Eur J Histochem.*, 60 (1), 2563.

Школьников В.С., Стельмашук П.О.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КОНЕЧНОГО МОЗГА ПЛОДА ЧЕЛОВЕКА 7-8 НЕДЕЛИ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

Резюме. Проведено анатомо-гистологическое, иммуногистохимическое и морфометрические исследования полушарий головного мозга 12 плодов человека гестационным сроком - 7-8 недель. Белое и серое вещества полушарий головного мозга имеют характерное расположение клеток в 5 слоев. Общая толщина неравномерна в зависимости от доли головного мозга. Экспрессия Ки-67 определяется в виде тонкой полоски в течение всей желудочковой зоны, что является свидетельством того, что желудочковая зона является начальной в формировании будущих нейральных клеток, а также клеток радиальной глии. Волокна радиальной глии начинаются от базальной мембраны желудочковой зоны, пронизывают субвентрикулярную зону в радиальном направлении и доходят до краевой зоны. Экспрессия синаптофизина, как маркера развития постсинаптических мембран полностью отсутствовала в течении всей желудочковой зоны полушарий мозга одновременно сильная экспрессия наблюдалась в промежуточной и корковой зоне.

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

Shkolnikov V.S., Stelmashchuk P.O.

FEATURES OF STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE TELEENCEPHALON HUMAN FETUS OF 7-8 WEEKS FETAL DEVELOPMENT

Summary. An anatomical and histological, immunohistochemical and morphometric study of the cerebral hemispheres of 12 human

fetuses gestational period - 7-8 weeks. White and gray matter of the cerebral hemispheres is the characteristic arrangement of cells in 5 layers. The total thickness is uneven, depending on the proportion of the brain. The expression of Ki-67 is defined as a thin strip throughout the ventricular zone, which is an indication that the ventricular zone is primary in shaping the future neural cells and radial glial cells. Radial glial fibers start from the basement membrane ventricular zone, subventricular permeate zone in the radial direction and reach the boundary area. Synaptophysin expression as a marker of postsynaptic membranes was completely absent throughout the ventricular zone of the brain hemispheres, while a strong expression was observed in the intermediate zone and cortical.

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

Рецензент - д.мед.н., проф. Маєвський О.Є.

Стаття надійшла до редакції 14.08.2017 р.

Школьніков Володимир Семенович - д.мед.н., доцент кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; +38(0432)533518; v.shkolnikov@gmail.com

Стельмашук Павло Олегович - асистент кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; 0685183640
