

УДК 616.831.38-008.811.1-053.31

**В.В. Колесник,
І.Ю. Олійник,
Ю.І.Коваль**

МЕТОДОЛОГІЯ* МОРФОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПЛОДІВ І НОВОНАРОДЖЕНИХ

Буковинський державний медичний
університет (м. Чернівці); ¹Черні-
вецька обласна комунальна медична
установа „Патологоанатомічне бюро”

Ключові слова: головний мо-
зок, плоди, новонароджені,
методологічні підходи
дослідження.

Резюме. Автори пропонують методологічні підходи до вивчення мозку плодів і новонароджених. Деякі з них (оцінка швидкості гірифікації та її відповідності терміну гестації плоду за допомогою візуалізації поверхні півкуль головного мозку; перфузії судин головного мозку фіксатором Караганова) оригінальні, інформативні і можуть успішно використовуватися морфологами у їх науковій роботі.

Згідно публікацій наукових джерел останніх п'яти років церебральна патологія плодів і новонароджених являє собою актуальну проблему сучасної охорони здоров'я та спонукає дослідників (морфологів) до проведення нових наукових пошуків. Нормальний розвиток мозку під впливом багатьох чинників може порушуватися, що зумовлено як високою чутливістю мозку в критичні періоди розвитку, так і незворотністю деяких із наслідків таких впливів. Крайніми проявами дії різних патогенних чинників є дефекти розвитку органа, що не сумісні з життям або призводять до стійкого зниження інтелектуальної здатності чи інвалідності.

У структурі захворювань, які призводять до інвалідності, провідне місце займають психічні розлади, захворювання нервової системи та органів чуття. Уроджені вади розвитку центральної нервової системи плода становлять від 10 % до 30 % усієї уродженої патології. Передусім, це відноситься до аномалій шлуночкової системи мозку плода [4]. Проведений І.Ю. Олійник, Ю.Т. Ахтемійчук, Ю.І. Коваль та ін. [7] ретроспективний аналіз 1542 протоколів розтину дітей у Чернівецькій обласній комунальній медичній установі „Патологоанатомічне бюро” за період 2001-2008 рр. показав, що загальна частота уроджених вад на Буковині становить 20,4 %. Уроджені вади виявлені в усіх вікових групах, проте переважну більшість їх становлять діти першого року життя. У нозологічній структурі переважали вади системи кровообігу (33,0 %), нервової системи (21,0 %) та множинні уроджені вади (9,5 %).

Значне зростання з 2007-2008 рр. на Буковині загальної частоти уроджених вад зумовило включення у статистичний облік плодів-викиднів масою до 500 г [7]. Згідно повідомлення В.П. Пішака з співавт. [9] у структурі смертності дітей Чернівецької області віком від 0 до 14 років уроджені вади посідають третє місце після перинатальних причин та нещасних випадків. При недавньому вивченні структури уроджених вад розвитку в дітей Буковини дослідження авторів [10] показали, що перше рейтингове місце займають вади центральної нервової системи (32,63 %).

Ситуація не є вузькотериторіальною для Буковини, чи України в цілому. Спираючись на проведений аналіз рівня дитячої інвалідності у Санкт-Петербурзі (Росія), Н.Ю. Янушанець [12] стверджує, що захворювання нервової системи становлять 21,4 % всіх захворювань, які визначають реалізацію інвалідності в дитинстві. Дитяча інвалідність, що зумовлена гідроцефалією, згідно даних [3], є ще вищою і становить 36,3 %. Водночас, в Росії, під час проходження МСЕК 16-річними підлітками щорічно вперше реєструється біля 50 000 дітей-інвалідів.

Несприятлива ситуація, на наш погляд, є частково наслідком недосконаlosti діагностичних, лікувальних і профілактичних заходів та диктує завдання поглибленого комплексного дослідження головного мозку плодів і новонароджених, успішне розв'язання якого певною мірою залежить від якості матеріалу та методичних підходів до патоморфологічного дослідження головного мозку. Спираючись на класичні мето-

* Методологія науки (<http://ru.wikipedia.org/wiki/методология>), в традиційному розумінні, – це вчення про методи та процедури наукової діяльності, а також розділ загальної теорії пізнання, особливо теорії наукового пізнання (епістемології) та філософії науки.

Методологія, в прикладному сенсі, – це система (комплекс, взаємопов'язана сукупність) принципів і підходів дослідницької діяльності, на які спирається дослідник (вчений) в ході отримання та розробки знань у рамках конкретної дисципліни: фізики, хімії, біології, медицини, інформатики, тощо.

дичні посібники [1] та власний досвід, нами пропонується ряд підходів до патоморфологічно-то дослідження головного мозку плодів і новонароджених.

Головний мозок під час автопсії плодів і новонароджених обережно виймають із порожнини черепа в комплексі з мозочком за методом Хрущелевски – Шперль-Зейфрідовой [1] та з метою наступної органометрії [2] вкладають базальною поверхнею вниз на препарувальний столик. Застосовуючи циркуль та металеву лінійку з точністю до 1 мм вимірюють лінійні параметри головного мозку: довжину (найбільшу відстань між лобним і потиличним полюсами), ширину (найбільшу відстань між скронево-тім'яними відділами правої та лівої півкуль головного мозку), висоту (вертикальну відстань між найбільш високою точкою медіального краю правої чи лівої півкулі головного мозку та найбільш низькою точкою відповідної скроневої частки). Масу органа з точністю до 1 г визначають на електронних вагах. За кількістю мілілітрів фізіологічного розчину, яку витісняє головний мозок із мірного циліндра визначають об'єм органа.

В ході макроскопічного дослідження головного мозку плодів та новонароджених важливо дослідити особливості рельєфу поверхонь півкуль головного мозку та задокументувати макротографуванням. Дане дослідження дозволяє оцінити темп формування рельєфу поверхні півкуль головного мозку та його відповідність гестаційному віку з врахуванням того, що за неускладненого перебігу вагітності у формуванні рельєфу поверхні півкуль головного мозку, який оцінюється за послідовністю появи борозен першого порядку, визначають [11] три етапи: 1-й – на 20-21 тижнях внутрішньоутробного розвитку (ВУР) борозни наявні лише на медіальній поверхні півкуль (борозни: шпорна,тім'яно-потилична, мозолистого тіла), конвексимальна поверхня головного мозку на вигляд гладка; 2-й – на 22-23 тижнях ВУР відбувається формування основної борозни першого порядку, яка дозволяє розмежувати великі півкулі на частки; 3-й – на 24-25 тижнях ВУР завершується формуванням всіх борозен першого порядку. Констатувати дисхронний розвиток головного мозку у плодів і новонароджених можна за умови сповільнення темпу гірфікації на 2-3 тижнях ВУР, внаслідок чого формування рельєфу кори півкуль за рахунок послідовної появи борозен першого порядку до початку 28 тижня гестації не завершується.

Макроскопічний метод візуалізації дозволяє виявити вроджені вади розвитку головного мозку: прозенцефалію (групу вад розвитку го-

ловного мозку на різних стадіях розвитку переднього мозкового міхура); голопрозенцефалію (головний мозок має вигляд півсфери з єдиною відкритою вентрикулярною порожниною); ателенцефалію (відсутність великих півкуль і підкіркових ядер при збереженому черепі); макро-, мікроцефалію; мікрогігірію, полігігірію (полімікрогігірія – вада розвитку мозку, що характеризується наявністю чисельних дрібних звивин та проявляється, зазвичай, розумовим відставанням), пахігігірію (розширення звивин великих півкуль мозку та зменшення кількості мозкових борозен), агігірію (дефект розвитку зі слабкою виразністю звивин кори головного мозку внаслідок порушення мігрування нейробластів в ембріогенезі), а також ряд генних синдромів, що проявляються множинними вродженими вадами розвитку (агнатії-голопрозенцефалії, Денді-Уокера, Уокера-Варбурга, Патау, тощо) [6].

При роботі з головним мозком без його фіксації виникають деформації структур органу. Якісна фіксація головного мозку досягається його зануренням на термін від кількох діб до двох тижнів у 10 % нейтральний розчин формаліну з додаванням сулеми (на 100 мл 10 % розчину нейтрального формаліну – 10 мг дихлориду ртуті). Фіксований таким чином головний мозок набуває пружнопластичної консистенції, що надал полегшує виконання маніпуляцій пов'язаних з прицілним дослідженням органу. З метою пролонгованої фіксації головний мозок погрузають у розчин нейтрального формаліну розсіченим на дві половинки в горизонтальній площині на рівні спайок склепіння.

Надзвичайно важливим є проведення автопсії у найближчі 2 години після констатації клінічної смерті. Власне рання автопсія дозволяє провести якісний забір матеріалу для бактеріологічного, бактеріоскопічного (мазки-відбитки з м'яких оболонок і епендимної вистилки бічних шлуночків), імунофлуоресцентного й імуногістохімічного досліджень та уникнути артефактів на всіх етапах обробки матеріалу аж до виготовлення гістологічних препаратів і блоків для електронної мікроскопії.

Забір матеріалу слід проводити одночасно в весь комплекс запланованих досліджень. Оцінку матеріалу слід проводити на різних структурних рівнях – органному, тканинному, клітинному, субклітинному і молекулярному, які дозволяють встановити динаміку кількісних і якісних змін досліджуваних об'єктах. Уточнити етіологію запалення дозволяє забір матеріалу на бактеріологічне і бактеріологічне дослідження. Мазки відбитки з м'яких мозкових оболонок базаль-

поверхні головного мозку та візуально змінених відділів вентрикулярної епендими слід оцінювати після забарвлення препаратів за Грамом [5, 8].

Забір тканини головного мозку для гістологічного дослідження з вико-ристанням оглядових і елективних забарвлень [5] слід проводити в анатомічних відділах головного мозку із врахуванням проєкції на елементи вентрикулярної системи. Переднім рогам бічних шлуночків відповідає латеральний фрагмент середньої третини верхньої лобної звивини; тілам – медіальний фрагмент задньої третини вказаної звивини; заднім рогам – ділянка нижньої тім'яної частки, яка обмежується верхнім відділом постцентральної і переднім відділом внутрішньотім'яної борозни; нижнім рогам – центральний відділ середньої скроневої звивини, обмежений верхньою і середньою скроневи ми щілинами. Доступ до III шлуночка, розташованого в серединній сагітальній площині й обмеженого медіальними поверхнями таламусів, здійснюється під візуальним контролем після попереднього виконання горизонтального зрізу головного мозку на рівні спайки склепіння. Сільвіїв водопровід легкодоступний для візуалізації та дослідження на поперечних серійних зрізах ніжок мозку, IV шлуночок – на сагітально-середньому зрізі довгастого мозку.

Однією із обов'язкових умов комплексного морфологічного дослідження головного мозку є дослідження гістологічних особливостей судинних сплетень і м'якої мозкової оболонки з базальної поверхні півкуль головного мозку, які беруть безпосередню участь в продукції та всмоктуванні ліквору. Після фіксації головного мозку в нейтральному формаліні із зазначених вище анатомічних відділів обох півкуль висікають кусочки тканини розмірами 0,5 x 0,5 см, які включають кору, білу речовину, гермінативний матрикс і епендимну вистилку. Із фіксованого матеріалу виготовляють парафінові зрізи товщиною 18-20 мкм, які забарвлюють гематоксиліном Ерліха з дофарбовуванням еозином, а також 0,5 % розчином кризилового фіолетового і тіоніну за методом Ніссля [5, 8] та заключають у бальзам.

На основі оглядових препаратів вивчають цито- і ангіоархітектоніку головного мозку. Застосування елективних забарвлень дозволяє виявити особливості структури цитоархітектонічних шарів неокортекса, білої речовини, гермінативного матрикса, епендими і їх клітинних елементів.

Надалі на оглядових гістологічних препаратах розраховуються гістостереометричні (товщина мозкової паренхіми, цитоархітектонічних

шарів, гермінативної зони) і цитокаріометричні показники, які дозволяють оцінити ступінь атрофії мозкової паренхіми, а також взаємовідношення об'ємних параметрів ядер нейронів, гліальних клітин і епендими. Для розрахунку цитокаріометричного показника за К. Ташке використовують формули, вибір яких залежить від форми ядра:

$$V = \pi/6 \cdot (LB^2) \text{ або } V = \pi/6 \cdot D^3,$$

де L – більший діаметр ядра еліпсоїдної форми; B – менший діаметр ядра еліпсоїдної форми; D – діаметр кулеподібного ядра.

З метою вивчення структурних особливостей елементів вентрикулярної системи і мозкової паренхіми на субклітинному рівні забір матеріалу для електронної мікроскопії слід проводити в перші 20 хв від моменту початку автопсії. Якісну фіксацію тканин можна досягнути використовуючи метод перфузії судин головного мозку фіксатором Караванова: після розтину грудної клітки і середостіння в судинну систему плоду (новонародженого) через лівий шлуночок серця упродовж 10-15 хв вводять 300-350 мл 25 % глутарового альдегіду під тиском 20-30 мм рт. ст. Для профілактики індукованого підвищення тиску в судинній системі і, відповідно, виникнення артефактів у момент перфузії необхідно створити відтік крові із просвіту відкритої правої внутрішньої яремної вени. Після завершення перфузії із названих вище зон мозкової паренхіми вирізають кусочки тканини розміром 0,3 x 0,3 см, які для подальшої фіксації занурюють у 2 % глутаровий альдегід на фосфатному буфері (рН 7,3).

Отже, враховуючи органоспецифічні особливості головного мозку (м'яка, драглиста консистенція, водянистість тканини) і зв'язану з ними складність візуалізації лікворної системи, ми пропонуємо деякі методичні підходи до вивчення головного мозку плодів і новонароджених, які включають особливі способи фіксації і комплексну оцінку патоморфологічних змін на всіх рівнях структурної організації. Деякі методики – оцінка темпів гірфікації і їх відповідність гестаційному віку плода чи новонародженого, перфузія судин головного мозку фіксатором Караванова – оригінальні, інформативні та успішно можуть застосовуватись морфологами в їх науковій роботі.

Література

1. Автандилов Г.Г. Основы патологоанатомической практики. Руководство (3 изд., дополнено) / Г.Г. Автандилов. – М.: РМАПО, 2007. – 480 с.
2. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 382 с.
3. Барашнев Ю.И. Роль гипоксически-травматических повреждений головного мозга в формировании инвалидности с детства / Ю.И. Барашнев, А.В. Розанов, В.О. Панов [и др.] // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии. – 2006. – Т. 51, №

4. – С. 41-46. 4. Волков А.Е. Пренатальная диагностика редких пороков центральной нервной системы / А.Е. Волков // Пренатальная диагностика. – 2005. – Т. 4, № 3. – С. 179-185. 5. Волкова О.В. Основы гистологии с гистологической техникой / О.В. Волкова, Ю.К. Елецкий. – М.: Медицина, 1982. – 304 с. 6. Лазюк Г.И. Терапология человека / [Лазюк Г.И., Кириллова И.А., Кравцова Г.И., Кручинский Г.В. и др.]; под ред. Г.И. Лазюка. – М.: Медицина, 1991. – 480 с. 7. Олійник І.Ю. Структура природжених вад на Буковині у 2001-2008 рр. / І.Ю. Олійник, Ю.Т. Ахтемійчук, Ю.І. Коваль [та ін.] // Вісн. морфології. – 2008. – Т. 14, № 2. – С. 415-418. 8. Олійник І.Ю. Методичні основи гістопатологічних і гістохімічних досліджень / І.Ю. Олійник. – Чернівці, 2001. – 73 с. 9. Пішак В.П. Епідеміологія уроджених вад розвитку в дітей Буковини / В.П. Пішак, М.О. Ризничук, В.Г. Остапчук // Здорова дитина: основи раціонального харчування: матер. VI наук.-практ. інтернет-конференції з міжнарод. участю (18 лютого 2011 р.). – Чернівці: БУКМЕА, 2011. – С. 65. 10. Пішак В.П. Частота та структура уроджених вад розвитку в дітей Чернівецької області / В.П. Пішак, М.О. Ризничук, В.Г. Остапчук // Здорова дитина: основи раціонального харчування: матер. VI наук.-практ. інтернет-конференції з міжнарод. участю (18 лютого 2011 р.). – Чернівці: БУКМЕА, 2011. – С. 64-65. 11. Проценко Е.В. Особенности формирования рельефа коры полушарий большого мозга у новорожденных с экстремально низкой массой тела при физиологическом течении и невынашивании беременности / Е.В. Проценко, Л.П. Перетяко, Н.А. Миронычева // Арх. патол. – 1996. – Вып. 1. – С. 51-54. 12. Янушанец Н.Ю. Анализ уровня и структуры детской инвалидности вследствие заболеваний нервной системы в Санкт-Петербурге / Н.Ю. Янушанец // Рос. вестн. перинатол. и педиатри. – 2006. – Т. 51, № 4. – С. 53-56.

МЕТОДОЛОГИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ

Колесник В.В., Олійник І. Ю., Коваль Ю.І.

Резюме. Авторы предлагают методологические подходы к изучению мозга плодов и новорожденных. Некоторые из них (оценка скорости гирификации и ее соответствия сроку гестации плода с помощью визуализации поверхности полушарий головного мозга; перфузии сосудов головного мозга фиксатором Караганова) оригинальные, информативны и могут успешно использоваться морфологами в их научной работе.

Ключевые слова: головной мозг, плоды, новорожденные, методологические подходы исследования.

METHODOLOGY OF MORPHOLOGICAL STUDY OF THE BRAIN FETUSES AND NEWBORNS

V.V. Kolesnik, I.Yu. Ollinyk, Yu.I. Koval.

Abstract. The authors propose methodological approaches to the study of the fetuses and newborns brain. Some of them (evaluation of the rate of gyration and its correspondence to the gestation periods of the fetus by visualizing the hemispheric brain surface; perfusion of the cerebral vessels by means of Karaganov fixator) are original, informative and can be used successfully by morphologists in their scientific work.

Key words: brain, fetus, newborn, methodological approaches of research.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and exp. pathol. - 2011. - Vol. 10, №3 (37). - P.96-99

Надійшла до редакції 7.08.2011

Рецензент - проф. Ю. Т. Ахтемійчук

© В.В. Колесник, І.Ю. Олійник, Ю.І.Коваль, 2011