

УДК 611.813.9.018.8:57.086

О.Д. Боягина

Кафедра анатомии человека (зав. – проф. А.А. Терещенко) Харьковского национального медицинского университета

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ МОЗОЛИСТОГО ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ РУТИННЫХ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

РЕЗУЛЬТАТИ МІКРОСКОПІЧНОГО ВИВЧЕННЯ БУДОВИ МОЗОЛИСТОГО ТІЛА ЛЮДИНИ ЗА ДОПОМОГОЮ РУТИННИХ ГІСТОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ

Резюме. У роботі показана межа, якою обмежуються можливості традиційних гістологічних методів при вивченні білої речовини центральної нервової системи на прикладі мозолистого тіла. Також у результаті дослідження отримана принципово нова інформація про будову мозолистого тіла на мікроскопічному рівні його організації завдяки використаним вперше методам пластинації мозкової тканини в епоксидній смолі з подальшим виготовленням тонких шліфів і серійних напівтонких зрізів.

Ключові слова: мозолисте тіло, гістологічні методи дослідження, епоксидна пластинація.

В предыдущих наших публикациях [1] изложены результаты изучения микроскопического строения мозолистого тела человека, которые получены с помощью нетрадиционных морфологических методов, состоящих в эпоксидной пластинации тотальных и частичных его препаратов с последующим получением из них полированных шлифов различной толщины, а также изготовлением серийных полутонких срезов. Благодаря именно этим методам нам удалось разобраться в общем принципе и тонкостях, как оказалось, чрезвычайно сложной структурной организации самой большой спайки конечного мозга – мозолистого тела. И только после этого, в целях уточнения некоторых аспектов пространственных отношений между установленными нами образованиями, мы обратились к возможностям традиционных в гистологии парафиновых срезов.

На практике мы убедились, что процесс изготовления их сопряжен со многими артефициальными изменениями, которые выражаются в набухании, сморщивании или разрыхлении тканевых структур, что особенно наблюдается при изучении мозговой ткани [2].

И все же, несмотря на ряд недостатков, изучение парафиновых срезов предоставило полезную информацию, которая позволила в одних случаях дополнить, а в других – уточнить предыдущие результаты.

Цель исследования: показать тот предел, которым ограничиваются возможности традиционных гистологических методов при изучении белого вещества центральной нервной системы на примере мозолистого тела.

Материал и методы. В работе использованы тотальные препараты свободной части мозолистого тела 5 мужчин и 5 женщин в возрасте от 40 до 60 лет, которые были выделены из цельных препаратов головного мозга после их двухнедельной фиксации в 10% растворе нейтрального формалина. Получение их было обеспечено благодаря договору между Харьковским национальным медицинским университетом и Харьковским областным бюро судебно-медицинской экспертизы.

Данные препараты использованы в целях иссечения из стволового отдела мозолистого тела пластинчатых срезов, толщиной около 2 мм, в двух взаимно перпендикулярных плоскостях (продольно и поперечно его стволового отдела), которые затем подвергались пропитке и заключению в парафиновые блоки, согласно общепринятым методам. В дальнейшем из них готовили серийные срезы толщиной около 10 мкм. Данная толщина продиктована особенными свойствами материала и определенными целевыми соображениями.

Для их окраски использовано два метода – гематоксилином и эозином, и по Ван-Гизону. Пер-

вый их них служил в целях избирательной дифференцировки между разными тканевыми структурами мозолистого тела, тогда как второй – для преимущественного выявления соединительнотканых элементов. Следует отметить, что по сложившейся традиции в гистологических лабораториях окраска парафиновых срезов мозговой ткани по Ван-Гизону считается неадекватной, что, как оказалось в нашей практике, является предубеждением.

Изучение препаратов осуществлено с помощью светового микроскопа «Конус», оснащенного цифровой фотопроставкой.

Результаты исследования и их обсуждение.

За счет того, что в парафиновых срезах заключено больше по толщине тканевых элементов, чем в полутонких срезах (10 мкм в сравнении с 2 мкм), в световом микроскопе общая картина внутреннего строения мозолистого тела выглядит менее разборчивой в своих деталях, отличаясь потерей контурной отчетливости между смежными порционными совокупностями нервных волокон.

Начнем с определения некоторых исходных морфологических ориентиров, к которым, в первую очередь, относятся соединительнотканые прослойки, разграничивающие между собой комиссуральные канатики, и поэтому названные нами межфуникулярными септами, нашедшие описание в наших предыдущих статьях [1, 3]. Одна из таких перегородок представлена на рисунке 1. На той же микрофотографии в правом поле от межфуникулярной септы частично обнаруживается в косом сечении меньшая по толщине соединительнотканная прослойка, в которой распознается одна из множества межфасцикулярных прослоек. На большем протяжении подобная прослойка видна на верхней микрофотографии рисунка 2, а на его нижнем снимке фрагментарно визуализируются поперечные отроги межфасцикулярных прослоек, которые находятся между субфасцикулярными порциями комиссуральных канатиков мозолистого тела. Этим в основном исчерпываются те распознаваемые нами образования, которыми разграничиваются пространственные пределы между основными уровнями иерархической организации мозолистого тела, выделяемые нами под названиями комиссуральных канатиков и их субъединиц – фасцикулярных и субфасцикулярных порционов нервных волокон. Пользуясь тем, что парафиновые срезы позволяют целиком охватить поперечное сечение мозолистого тела, мы можем его рассмотреть в качестве пластинки белого вещества, расположенной

между двумя отсеками цереброспинальной жидкости, таким образом, что сверху от него циркулирует субарахноидальная жидкость, тогда как его нижнюю поверхность омывает жидкость боковых желудочков. В принципиальном отношении это представлено на рисунке 3. Известно, что с обеих сторон собственно вещество мозолистого тела отделено от данных жидкостных отсеков двумя лимитирующими глиальными оболочками: сверху его покрывает наружная, а снизу – внутренняя, которые здесь мы можем конкретизировать.

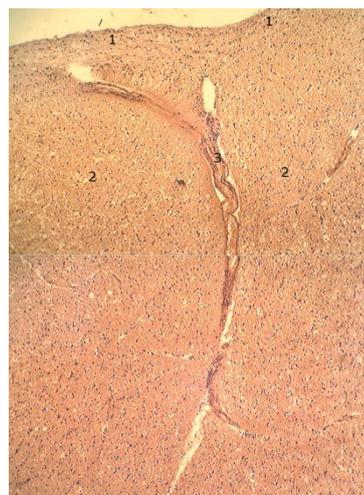


Рис. 1. Гистологическое строение мозолистого тела мужчины зрелого возраста. Парафиновый срез. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 4$: 1 – валикообразные возвышения (поперечные полоски); 2 – комиссуральные канатики; 3 – межфуникулярная соединительнотканная перегородка

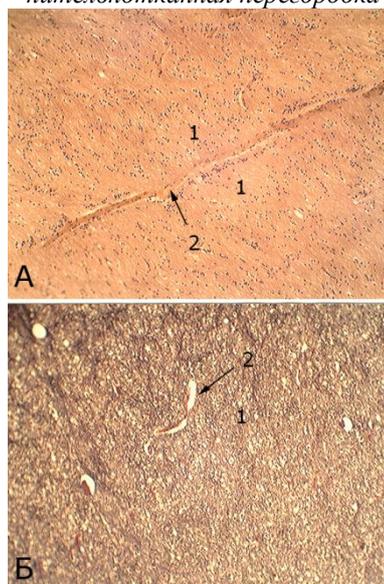


Рис. 2. Гистологическое строение мозолистого тела женщины зрелого возраста. Парафиновые срезы. А – окраска гематоксилином и эозином; Б – окраска по Ван-Гизону. $\times 4$: 1 – фасцикулярные порционы; 2 – межфасцикулярные соединительнотканые прослойки



Рис. 3. Гистотопографія мозолистого тела чоловіка зрілого віку. Парафіновий срез в поперечному сеченні мозолистого тела. Окраска по Ван-Гизону. х4: 1 – зовнішня лімітуюча гліальна оболочка (серое покриття); 2 – власне вещество мозолистого тела (товщина его обозначена прямою вертикальною лінією); 3 – внутрішня лімітуюча гліальна оболочка; 4 – епендімальний слой; 5 – венні судини. Кривою лінією показана траєкторія проходження міжфасцикулярної зв'язуючої прошлойки

Что касается наружной лимитирующей глиальной оболочки, то нами установлено: она представляет собой то, что известно в литературе как серое покрытие, названное так из-за несколько более темной его тональности по сравнению с веществом, составляющим толщу самого мозолистого тела. Не вдаваясь в подробности вопроса о трактовке его природы в литературе, ограничимся только теми фактами, которыми мы располагаем в настоящее время. Согласно им серое покрытие состоит в основном из наслоения глиальных клеток, которые по всем цитологическим признакам относятся к фибриллярным астроцитам. Особенно отчетливо они обнаруживаются на парафиновых срезах, окрашенных по Ван-Гизону, на которых серое покрытие имеет вид отчетливо выраженного поверхностного слоя, который своей более светлой окраской контрастирует с подлежащей толщей мозолистого тела (рис. 3). На данной микрофотографии можно удостовериться, что находящиеся в нем фибриллярные астроциты со своими ламеллярными отростками образуют в сером покрытии отвесную исчерченность, уходящую вглубь мозолистого тела по направлению к нижней его поверхности. При изучении с помощью полутонких срезов нами было установлено, что астроциты локально внедряются в его толщу вместе с кровеносными микрососудами, форми-

руя вокруг последних периваскулярные глиальные оболочки.

Все эти факты вполне достаточны для вывода, что серое покрытие не является каким-то особым образованием среди структур большого мозга; оно по своему строению идентично наружной (или поверхностной) ограничивающей глиальной оболочке, которой покрыта вся внешняя поверхность головного мозга, в том числе и верхняя поверхность мозолистого тела [4]. Авторы указывают, что данная лимитирующая оболочка только посредством базальной мембраны отделена от расположенной поверх нее мягкой, сосудистой оболочки.

Также известно, что кровеносная сеть мягкой оболочки является источником образования ветвей, проникающих в вещество головного мозга через так называемые соединительнотканно-глиальные воронки или муфты, представляющие собой локальные углубления наружной лимитирующей глиальной оболочки. При этом все кровеносные сосуды разного калибра, проникающие в мозговое вещество, находятся в окружении периваскулярной глиальной оболочки, которая образована фибриллярными астроцитами и их ламеллярными отростками [5-7]. Эти данные литературы в точности совпадают с результатами наших предыдущих исследований [1] и находят в общих чертах подтверждение на парафиновых срезах, но не в таких тонких деталях, как это демонстрируют полутонкие срезы. Но преимуществом парафиновых срезов, особенно при окраске по Ван-Гизону, является то, что по ним удастся на большем протяжении проследить данные глиально-сосудистые комплексы, которые занимают место в пределах межфуникулярных и межфасцикулярных соединительнотканых прослойках. Напомним, что все они в толще мозолистого тела имеют отвесную ориентацию – от верхней его поверхности к нижней, то есть они направлены на сближение с внутренней лимитирующей глиальной оболочкой, которая представлена епендімальною выстилкой с подлежащим к ней субэпендімальным слоем, что отчетливо визуализируется на парафиновых срезах (см. рис. 3).

После этого краткого обзора парафиновых срезов мозолистого тела надо разобраться по ним (парафиновым срезам) в его микроархитектонике. При малых увеличениях светового микроскопа все поля, расположенные в пределах фасцикулярных порционных, представляют собой довольно однообразную картину, состоящую почти из сплошной массы оксифильно окрашенных пунктирных прожилок, на фоне которых рассеяно бесчислен-

ное множество базофильных частиц, имеющих также пунктирную форму (см. рис. 1 и 2). Не будучи предварительно знакомым с истинной природой этих образований, их можно принять в целом за сплошную массу ориентированных в одном направлении нервных волокон. Но при большом увеличении мы в состоянии в этой массе различить известные нам структуры. На рисунке 4

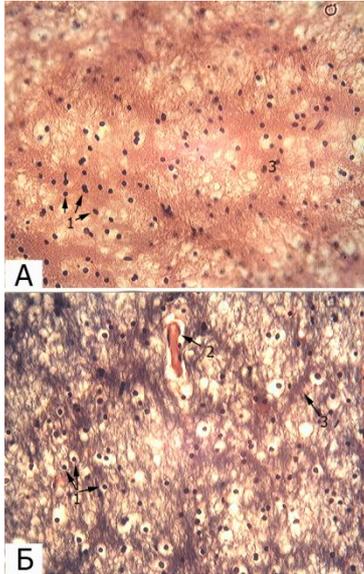


Рис. 4. Гистологическое строение мозолистого тела мужчины зрелого возраста. Парафиновые срезы. А – окраска гематоксилином и эозином; Б – окраска по Ван-Гизону. $\times 40$: 1 – ядра интерфасцикулярных олигодендроцитов; 2 – кровеносный микрососуд в межфасцикулярной соединительнотканной прослойке; 3 – темные прожилки – границы между сотовыми порциями, внутри которых видны пучки миелинизированных нервных волокон

представлены две микрофотографии, верхняя из которых получена с парафинового среза, окрашенного гематоксилином и эозином, а нижняя – по Ван-Гизону. Разница между ними не в тканевом различии структур, а в элективном выявлении их разными по химическим свойствам красителями. В первом варианте (верхний снимок) квасцовый гематоксиллин дает интенсивную синюю окраску клеточным ядрам, которые за счет этого отчетливо выявляются на фоне остальных структур, окрашенных эозином в розовый цвет. Установлено, что эти ядра принадлежат интерфасцикулярным олигодендроцитам. В сравнении с этим железный гематоксиллин Вейгерта (нижний снимок того же рисунка) придает тем же ядрам не столь отчетливый контраст на фоне остальных, более контурированных пикрофуксином, структур. Благодаря этому при окраске по Ван-Гизону становится более отчетливой визуализация миелинизированных нервных волокон. Более того,

преимущество окраски тканей мозолистого тела по Ван-Гизону заключается еще и в том, что в результате преимущественной реакции пикрофуксина с оболочками нервных волокон, негативно выявляются ячейки, в которых, как ранее было установлено, локализуются интерфасцикулярные олигодендроциты. В связи с этим следует считать, что при изучении миелоархитектоники центральной нервной системы более специфичным методом является окраска парафиновых срезов по Ван-Гизону.

Может показаться, что в принципе парафиновые срезы ничего существенного не привнесли в результаты наших предыдущих исследований. Но совершенно неожиданным оказалось, что благодаря им нам удалось наглядно визуализировать в мозолистом теле прежде постулированные нами самые минимальные уровни его структурной организации, которые мы назвали сотовыми порциями. Под ними понимаются предельно ограниченные в трехмерном объеме мозолистого тела ассоциации миелинизированных нервных волокон, которые распределены по ячейкам олигодендроцитарной сети, имеющих в основном полигональную форму. Этот вывод ранее базировался на результатах изучения серийных полутонких срезов по глубине просмотра ограниченных участков мозолистого тела. В отличие от этого парафиновые срезы, в толщине которых содержится примерно в 5 раз больше тканевых структур, чем в полутонких срезах, позволяют непосредственно визуализировать такие образования, в чем можно убедиться по микрофотографиям (рис. 4 и 5). На них видно, что в пределах фасцикуляр-

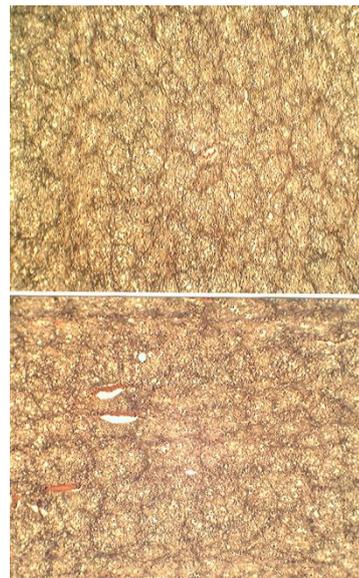


Рис. 5. Миелоархитектоника мозолистого тела мужчины зрелого возраста. Парафиновые срезы. Окраска по Ван-Гизону. $\times 4$

ных порционных вещество мозолистого тела при малых увеличениях микроскопа имеет вид узорчатой сети, которая состоит из кластерных рядов полигональных ячеек, окаймленных темноокрашенными прожилками. Нами установлено, что поперечные размеры данных ячеек находятся в пределах от 480 до 820 мкм; среднеарифметическое значение равно 647,0 мкм, что равно примерно 0,65 мм. В результате предыдущих цитотопических исследований нами было доведено, что в ячейках данной сотовой сети сосредоточены минимальные совокупности миелинизированных нервных волокон, оболочки которых являются продуктом секреторной деятельности расположенных по углам данных ячеек интерфасцикулярных олигодендроцитов.

Данные микрофотографии более отчетливо иллюстрируют узорчатую сеть, ячейками которой являются сотовые порции.

Выводы и перспективы дальнейших исследований. При опробованных нами традиционных гистологических методах изучения белого вещества головного мозга (в частности мозолистого тела) предпочтительной является окраска парафиновых срезов по Ван-Гизону. Однако они имеют ограниченные возможности, достаточные только в целях ознакомления с общим принципом структурной упорядоченности нервных волокон при относительно большом охвате площади мозгового вещества. В целях же тонкой цитологической дифференцировки его миелоархитектоники парафиновые срезы качественно уступают использованному нами впервые методам пластинации мозговой ткани в эпоксидной смоле с дальнейшим изготовлением тонких шлифов и серийных полутонких срезов, благодаря которым была получена принципиально новая информация о строении мозолистого тела на микроскопическом уровне его организации.

Список использованной литературы

1. Костиленко Ю.П. Форма внутренней организации мозолистого тела мужчин и женщин в зрелом возрасте / Ю.П. Костиленко, О.Д. Боягина // *Scientific Journal "ScienceRise"*. – 2015. – № 4/3(21). – С. 4-8.
2. Войно-Ясенецкий М.В. Источники ошибок при морфологических исследованиях / М.В. Войно-Ясенецкий, Ю.М. Жаботинский. – Л.: Медицина. – 1970. – С. 167-175.
3. Боягина О.Д. Строение мозолистого тела человека в посмертном состоянии сравнительно с его МРТ-изображением / О.Д. Боягина // *Georgian Medical News*. – 2016. – № 5 (254). – С. 87-92.
4. Немечек С. Введение в нейробиологию / С. Немечек. – Прага: Авиценум, 1978. – С. 396-399.
5. Пуцилло М.В. Нейрохирургическая анатомия / М.В. Пуцилло, А.Г. Винокуров, А.И. Белов. – М.: Антидор, 2002. – Т. 1. – 206 с.
6. Синельников Р.Д. Атлас анатомии человека: Учеб. Пособие: В 4 т. – 7-е изд., перераб. / Р.Д. Синельников, Я. Р. Синельников, А.Я. Синельников. – М.: РИИ "Новая волна": Издатель Умеренков, 2008. – Т. 3. – 216 с.
7. *Microsurgical anatomy of perforating branches of anterior communicating artery* / H. Ego, H. N'Da, L. Viart [et al.] // *Morphologie*. – 2015. – Vol. 99, № 324. – P. 6-13.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ МОЗОЛИСТОГО ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ РУТИННЫХ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Резюме. В работе показан предел, которым ограничиваются возможности традиционных гистологических методов при изучении белого вещества центральной нервной системы на примере мозолистого тела. Также в результате исследования получена принципиально новая информация о строении мозолистого тела на микроскопическом уровне его организации благодаря использованному впервые методам пластинации мозговой ткани в эпоксидной смоле с дальнейшим изготовлением тонких шлифов и серийных полутонких срезов.

Ключевые слова: мозолистое тело, гистологические методы исследования, эпоксидная пластинация.

THE RESULTS OF STUDY OF HUMAN CORPUS CALLOSUM MICROSCOPIC STRUCTURE BY MEANS OF ROUTINE HISTOLOGICAL METHODS

Abstract. The paper shows the limits restricting traditional histological methods when studying the white matter of the central nervous system on the example of corpus callosum. The study resulted in obtaining fundamentally new information concerning corpus callosum structure on the microscopic level of its organization. It became possible due to the first applied methods of brain tissue plastination in epoxy resin followed by further making of thin sections and series of half-thin slices.

Key words: the corpus callosum, histological methods of research, epoxy plastination.

Kharkiv National Medical University (Kharkiv)

Надійшла 21.10.2016 р.

Рецензент – проф. Хмара Т.В. (Чернівці)