

УДК 611.817.18:572.087

*Д.Н. Шиян**Харьковский национальный медицинский университет***МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЯДЕР МОЗЖЕЧКА**

В данной работе были использованы многочисленные методы дифференцировки ядер мозжечка с целью их лучшего контурирования. Разработан метод окраски ядер мозжечка, с помощью которого стало возможным с большей точностью дифференцировать топографо-анатомические особенности строения белого и серого вещества мозжечка и детализировать его структуры. Приводятся алгоритм работы и метод окраски серийных срезов ядер мозжечка. Разработанный метод окраски срезов мозжечка целесообразно применять для установления линейных размеров ядер мозжечка, их объема и толщины серого вещества, вариабельности строения зубцов Штиллинга и ворот зубчатого ядра мозжечка, топографо-анатомических закономерностей расположения ядер мозжечка в системе стереотаксических координат.

**Ключевые слова:** окраска, мозжечок, дифференцировка ядер.

Точное и полное знание структур центральной нервной системы является одной из основных проблем современной нейроморфологии [1–7].

В настоящее время существует огромное количество различных морфологических методов исследования центральной нервной системы. Среди них многочисленные методы дифференцировки ядер мозжечка с целью их лучшего контурирования: метод окраски срезов мозга по Р.Д. Синельникову [8], дифференцировка серого и белого вещества мозга по Ромодановскому, исследование неокрашенных срезов в проходящем свете, серебрение, окраска гематоксилин-эозином, по Крутсай и др. Однако далеко не все они позволяют точно установить границы ядер мозжечка, их размеры и форму, а также достоверно оценить полученную информацию [9–16]. В нейроморфологии одним из самых распространенных по-прежнему остается макромикроскопический метод исследования центральной и периферической нервной системы В.П. Воробьева и Р.Д. Синельникова [8, 10, 11]. Так, на кафедре анатомии человека Харьковского национального медицинского университета в продолжение работ основоположников Харьковской анатомической школы – В.П. Воробьева и Р.Д. Синельникова –

разработан метод окраски ядер мозжечка, с помощью которого стало возможным с большей точностью дифференцировать топографо-анатомические особенности строения белого и серого вещества мозжечка и детализировать его структуры [9].

Цель исследования – разработка нового метода дифференцировки серого и белого вещества для установления макромикроскопических особенностей ядер мозжечка.

**Объект и методы.** Исследование проведено на 300 препаратах мозжечка людей (160 – от мужчин, 140 – от женщин), умерших в возрасте от 20 до 99 лет вследствие заболеваний, не связанных с поражением центральной нервной системы. Выполнено 10 200 срезов препаратов ядер мозжечка. В данной работе были использованы макромикроскопический и морфометрический методы, методы статистического анализа.

Алгоритм проведения работы следующий:

- 1) выделение препарата мозжечка и прилежащих к нему участков мозга;
- 2) фиксация мозжечка по методу, разработанному на кафедре анатомии человека ХНМУ;
- 3) определение морфометрических параметров мозжечка;

© Д.Н. Шиян, 2015

4) изготовление серийных срезов мозжечка в горизонтальной, сагиттальной и фронтальной плоскостях;

5) фотографирование окрашенных горизонтальных срезов мозжечка;

6) изучение морфометрических и топографо-анатомических особенностей ядер мозжечка на срезах;

7) протоколирование полученных данных;

8) статистический анализ результатов исследования.

**Результаты и их обсуждение.** В ходе выполнения данной работы нами разработан оригинальный и технически достаточно простой новый метод окраски серийных срезов ядер мозжечка, при котором не применяют хлорное железо и желтую кровяную соль, но при этом всегда получают хороший результат [8]. В разработанном нами новом методе окраски ядер мозжечка используется гексоцианоферрат (III) калия при взаимодействии с железным и медным купоросом. Технический эффект нового метода окраски нервной системы обусловлен тем, что гексоцианоферрат (III) калия ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ), или красная кровяная соль, при взаимодействии с солями двухвалентного железа (которые чаще используются как восстановитель) окисляется, образуя при этом соединение характерного ярко-синего цвета, окрашивая ядра мозжечка в синий цвет с четко дифференцированными границами, белое вещество при этом остается неокрашенным и сохраняет свой естественный цвет. В качестве соли двухвалентного железа используется железный купорос.

*Метод окраски серийных срезов ядер мозжечка.*

1. Готовят 0,5 % раствор медного купороса  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , подогревают его на водяной бане до 50–55 °С, добавляют в него 40 мл фенола, предварительно расплавленного на водяной бане, и 2–3 капли концентрированной HCl.

2. Готовят 1 % раствор железного купороса  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , растворяют при комнатной температуре.

3. Готовят 1–1,5 % раствор красной кровяной соли  $K_3[Fe(CN)_6]$ , растворение ведут при комнатной температуре.

Все растворы готовят непосредственно перед использованием, объемы растворов

варьируют в зависимости от площади окрашиваемых срезов так, чтобы при погружении в раствор срезы были покрыты им полностью.

4. Мозжечок для окраски серийных срезов его ядер берут фиксированный в 10 % растворе формалина (для большего уплотнения фиксируют в 15–20 % формалине минимум 5 дней). Мягкую мозговую оболочку снимать не обязательно. Промывают водопроводной водой (в большей степени для более комфортной работы и устранения запаха формалина) и выполняют серию срезов мозжечка (его отдельных частей или целиком) на большом санном микротоме толщиной от 0,5 см методом, разработанным на кафедре анатомии человека ХНМУ.

5. Полученные серии срезов ядер мозжечка выкладывают на специальную нейлоновую сеточку для одноментной окраски всех срезов и погружают в теплый (50–55 °С) раствор № 1 на 2–3 мин. Выполняют в хорошо проветриваемом помещении.

6. Переносят в раствор № 2 на 3–4 мин.

7. Переносят в раствор № 3, в котором держат до получения нужной окраски.

8. После окраски серию срезов ядер мозжечка неоднократно промывают водопроводной водой и при необходимости дифференцируют 5 % раствором аммиака.

9. Проводят фотографирование полученных срезов. Мы использовали метод фотографирования объектов под водой.

10. Изучают морфометрические и топографо-анатомические особенности строения ядер мозжечка.

На срезах ядер мозжечка, окрашенных по предложенному способу, граница серого и белого вещества четко дифференцирована, благодаря чему появляется возможность более точно и достоверно детализировать их морфометрические и топографо-анатомические особенности строения, а также детализировать границы их поражения (рис. 1). Данный метод окраски срезов ядер мозжечка может быть использован с успехом как на свежем, нефиксированном материале, так и на фиксированном длительное время (в качестве фиксированного использовали материал, находившийся до 15 лет в 10 % формалине), рис. 2.

Анатомические препараты, изготовленные по данному новому методу окраски, оди-

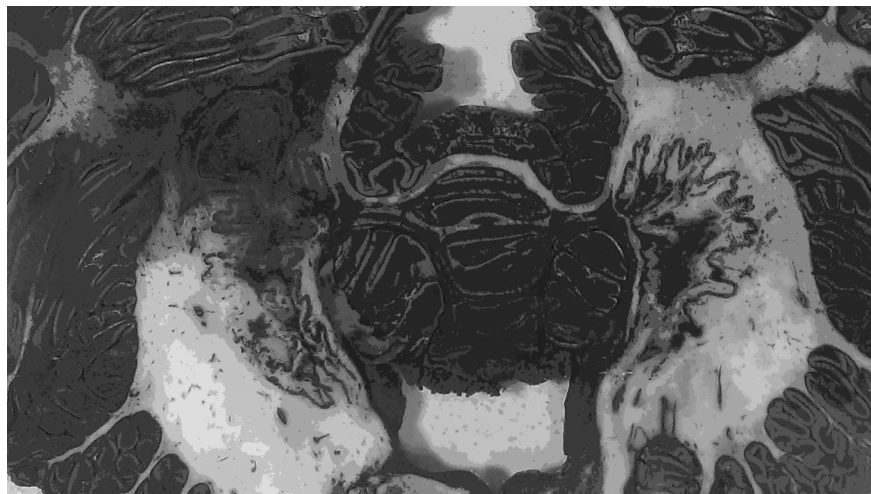


Рис. 1. Кровоизлияние в правую долю мозжечка в области белого вещества с поражением зубчатого ядра мозжечка. Горизонтальный срез. Мужчина, 64 года. Окраска по описанному методу

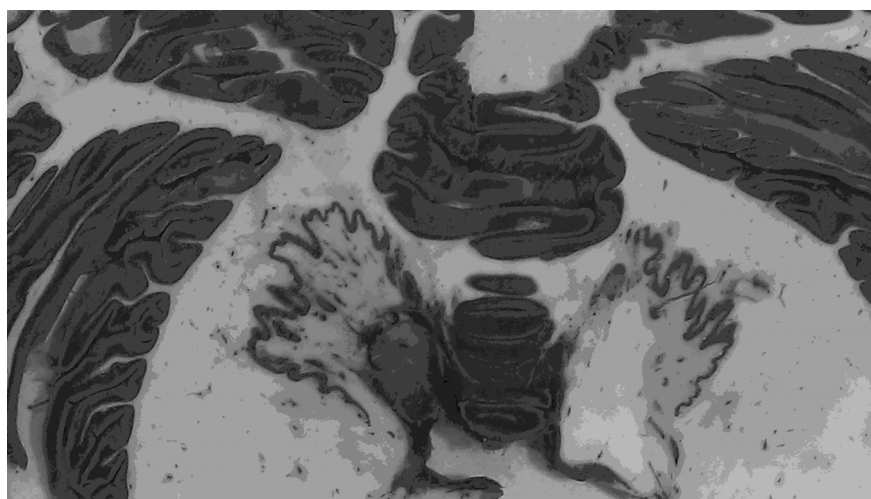


Рис. 2. Зубчатое ядро мозжечка. Горизонтальный срез. Мужчина, 78 лет. Окраска по описанному методу

наково долго и устойчиво сохраняются в 10 % формалине, спирте, глицерине.

Данный метод окраски срезов мозжечка применяется нами для установления линейных размеров ядер мозжечка, их объема и толщины серого вещества, вариабельности строения зубцов Штиллинга и ворот зубчатого ядра мозжечка, топографо-анатомических закономерностей расположения ядер мозжечка в системе стереотаксических координат.

#### **Выводы**

Разработанный метод окраски срезов ядер мозжечка является оптимальным при исследовании ядер мозжечка.

**Перспективы дальнейших исследований.** Результаты, полученные в ходе выполнения данным методом приготовления серийных срезов ядер мозжечка, будут использованы при выполнении ряда научных работ Харьковского национального медицинского университета. Данный метод используется в патологоанатомической службе в целях выявления патологических процессов белого и серого вещества мозжечка, детализации зон поражения мозжечка. По результатам серийных срезов ядер мозжечка, окрашенных по заявленному методу, разработана компьютерная программа, позволяющая выполнять реконструкцию ядер мозжечка и

получение их 3D модели с последующим применением данных результатов при прове-

дении компьютерного томографического исследования головного мозга и мозжечка.

### Список литературы

1. *Баландин А. А.* Макрометрическая характеристика мозжечка у людей первого периода зрелого возраста / А. А. Баландин // *Морфология*. – 2012. – Т. 141, № 3. – С. 18.
2. *Блинков С. М.* Мозг человека в цифрах и таблицах / С. М. Блинков, И. И. Глезер. – Л. : Медицина, 1964. – 471 с.
3. *Вербицкая Л. Б.* Цитоархитектоника коры и ядер мозжечка человека в онтогенезе : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук / Л. Б. Вербицкая. – М., 1966. – 19 с.
4. *Гавашели О. А.* К методике исследования ядра мозжечка человека / О. А. Гавашели // *Вопросы морфологии нервной системы* / [под ред. действ. члена АМН СССР В. Н. Терновского]. – М. : Медгиз, 1960. – С. 224–230.
5. *Гунас І. В.* Комп'ютерно-томографічні розміри мозочка та основних ядер кінцевого мозку в юнацькому віці / І. В. Гунас, О. О. Гавриленко, Ю. Й. Рудий // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 78–83.
6. *Жданович В. Н.* Межполушарная асимметрия мозжечка в различные возрастные периоды (по данным компьютерной томографии) / В. Н. Жданович, В. В. Коваленко, Е. К. Шестерина / *Актуальные проблемы медицины* : сб. науч. ст. Респуб. науч.-практ. конф. и 19-й итог. науч. сессии Гомельского гос. мед. ун-та (Гомель, 23–24 февраля 2010 года). – Гомель, 2010. – Т. 2. – С. 59–61.
7. *Кононова Е. П.* Мозжечок / Е. П. Кононова // *Многотомное руководство по неврологии* : в 4 т. – М., 1959. – Т. 1, кн. 1. – С. 389–143.
8. *Синельников Р. Д.* Способ изготовления препаратов по топографии серого и белого вещества ЦНС / Р. Д. Синельников // *Тр. Укр. психоневрологического института*. – 1943. – Т. 13. – С. 202–204.
9. Пат. 55427 Україна, МПК G01N 1/30. Спосіб забарвлювання препаратів головного мозку / Шиян Д. М., Коробкова Л. К., Лупир В. М. ; заявник та патентовласник Харківський національний медичний університет. – u201007778 ; заявл. 21.06.10 ; опубл. 10.12.10, Бюл. № 23.
10. *Руководство по препарированию и изготовлению анатомических препаратов* / [Гончаров Н. И., Сперанский Л. С., Краюшкин А. И., Дмитриенко С. В.]. – Н. Новгород : НГМА, 2002. – 192 с.
11. *Соловьев С. В.* Методика исследования серого вещества мозжечка человека / С. В. Соловьев, С. П. Герасин // *Российский медико-биологический вестник им. И. П. Павлова*. – 2000. – № 1/2. – С. 185–186.
12. *Хубутія Б. І.* Морфологические особенности мозжечка человека / Б. И. Хубутія, С. В. Соловьев // *Российский медико-биологический вестник им. И. П. Павлова*. – 2000. – № 1/2. – С. 65–67.
13. *Шиян Д. Н.* Морфометрические особенности зубчатого ядра мозжечка / Д. Н. Шиян // *Галицький лікарський вісник*. – 2013. – Т. 20, № 1, ч. 2. – С. 94–95.
14. *Хейнс Д.* Нейроанатомия: атлас структур, срезов и систем / Д. Хейнс. – М. : Логосфера, 2008. – 344 с.
15. *Imaging the deep cerebellar nuclei: a probabilistic atlas and normalization procedure* / J. Diedrichsen, S. Maderwald, M. Küper [et al.] // *Neuroimage*. – 2011. – V. 1, № 3. – P. 1786–1794.
16. *The dentate nucleus and its projection system in the human cerebellum: the dentate nucleus microsurgical anatomical study* / A. Akakin, M. Peris-Celda, T. Kilic [et al.] // *Neurosurgery*. – 2014. – V. 74, № 4. – P. 401–424.

**Д.М. Шиян**

#### МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ЯДЕР МОЗОЧКА

У даній роботі були використані численні методи диференціювання ядер мозочка з метою їх кращого визначення. Розроблено метод забарвлювання ядер мозочка, за допомогою якого стало

можливим з більшою точністю диференціювати топографо-анатомічні особливості будови білої і сірої речовини мозочка та деталізувати його структури. Наводяться алгоритм роботи і метод забарвлення серійних зрізів ядер мозочка. Розроблений метод забарвлення зрізів мозочка доцільно застосовувати для встановлення лінійних розмірів ядер мозочка, їхнього об'єму і товщини сірої речовини, варіабельності будови зубців Штіллінга та воріт зубчастого ядра мозочка, топографо-анатомічних закономірностей розташування ядер мозочка в системі стереотаксичних координат.

**Ключові слова:** забарвлення, мозочок, диференціювання ядер.

**D.N. Shiyan**

#### THE METHOD OF DETERMINING OF THE CEREBELLAR NUCLEI

In this work we used many methods of differentiation of cerebellar nuclei with an aim their better definition. We have worked a method for staining nuclei of the cerebellum by means of which it became possible to differentiate topographoanatomical structural features of the white and gray matter of the cerebellum more accurately and refine its structures. There are algorithm of work and method of staining of serial sections of the cerebellar nuclei. The worked method of coloring of sections of the cerebellum is expedient to use for establishment of linear dimensions of the nuclei of the cerebellum, their volume and thickness of gray matter, variability of structure of Stilling's teeth and gates of the dentate nucleus of the cerebellum, topographoanatomical regularities of location of cerebellar nuclei in system stereotaxic coordinates.

**Key words:** coloring, the cerebellum, differentiation of nuclei.

*Поступила 28.01.15*