

DOI: 10.26693/jmbs05.01.056

УДК 611.817.1

Мар'єнко Н. І., Степаненко О. Ю.

ЛИСТОК ЯК СТРУКТУРНА ОДИНИЦЯ МОЗОЧКА ЛЮДИНИ

Харківський національний медичний університет, Україна

maryenko.n@gmail.com

Кора мозочка є чітко структурованою частиною нервової системи. Наразі структурно-функціональною одиницею кори мозочка вважають модуль, який не може вичерпно описати принцип його структурно-функціональної організації на різних рівнях: від макроскопічного до мікроскопічного. Однією із структур, яку можна розглядати як структурну одиницю мозочка, є листок.

Мета дослідження – провести морфометричне дослідження листків кори мозочка людини, виявити межі і закономірності індивідуальної мінливості кількісних параметрів кори мозочка в філогенетично різних його відділах. Морфологічне дослідження проведено на 50 мозочків осіб, що померли від причин, не пов'язаних із патологією центральної нервової системи. Проводили морфометричне дослідження за допомогою комп'ютерної програми «Image Tool». На кожному окремому листку мозочка визначали висоту, максимальну та мінімальну ширину та різницю між ними, довжину гангліонарного шару, кількість клітин Пуркіньє, щільність клітин Пуркіньє (кількість клітин на 1 мм гангліонарного шару), середню відстань між центрами клітин Пуркіньє. Підраховувались показники на 100-150 листках сірої речовини в кожному мозочку.

У результаті морфометричного дослідження листків з'ясовано, що середня висота листка складає $1727,94 \pm 55,94$ мкм, мінімальна ширина листка – $1514,64 \pm 49,04$ мкм, максимальна ширина листка – $1794,94 \pm 58,10$ мкм, співвідношення «висота/максимальна ширина» – $1,009 \pm 0,03$, довжина гангліонарного шару – $3992,52 \pm 129,26$ мкм, різниця максимальної та мінімальної ширини листка – $25,09 \pm 0,81\%$. Кількість клітин Пуркіньє може варіювати від 1 до 55, переважають листки із малою кількістю клітин Пуркіньє (від 3 до 16). Отже, листок є постійною структурою мозочка, яку можна розглядати як структурну або як структурно-функціональну одиницю мозочка. Листок завжди включає сіру речовину – складку кори та іноді має власний центральний стержень білої речовини. Проте будова листків може суттєво відрізнятись, що відображається у високій варіабельності морфометричних параметрів листків.

Ключові слова: мозочок, листок мозочка, структурна одиниця.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом науково-дослідницької роботи кафедри гістології, цитології та ембріології Харківського національного медичного університету «Розробка нових методів оцінки морфофункціонального стану клітин, тканин та органів у нормі та патології», № державної реєстрації 0119U002911.

Вступ. Кора мозочка є чітко структурованою частиною нервової системи. Наразі структурно-функціональною одиницею кори мозочка вважають модуль [1-3]. Модуль кори мозочка являє собою вертикальну колонку кори, яка включає усі три шари кори мозочка (молекулярний, гангліонарний та зернистий), що містить всі види кортикальних нейронів мозочка та має єдине аферентне джерело входу інформації та єдиний еферентний шлях виходу інформації. Межі модуля визначаються ареалом розгалуження аферентних ліаноподібних волокон та мають парасагітальну орієнтацію. Напрямок вертикальних меж модуля мозочка збігається із напрямком висхідних аксонів клітин-зерен [4].

Модуль мозочка тривалий час розглядався як однотипна одиниця із добре організованими шляхами входу та виходу інформації, що здійснює адаптивний контроль та використовується для координації, модифікації, адаптації навчання моторним функціям [5-7]. Але в останні роки особливості функціонування модуля мозочка як операційної одиниці підлягають перегляду [5, 8]. Описані різні функціональні типи модулів [9], які зараз підрозділяють на менші субодиниці – мікрозони, які є кортикальною частиною мікромодулів [5, 10-12]

Оскільки мозочок має складну організацію, модуль не може вичерпно описати принцип його структурно-функціональної організації на різних рівнях: від макроскопічного до мікроскопічного. Однією із структур, яку можна розглядати як структурну одиницю мозочка, є листок.

Листки мозочка деякими науковцями розглядаються як незалежний робочий модуль (одиниця)

мозочка, що має єдиний загальний аферентний шлях отримання інформації та спільний еферентний шлях виходу інформації [13]. Листок являє собою складку кори (звивину), що розташована на пластинці білої речовини. Кожен листок отримує аферентну інформацію із кількох ліаноподібних волокон, що розгалужуються в межах одного листка, та кількох мохоподібних волокон, кожне із яких віддає колатералі до кількох сусідніх листків [14].

Структура, форма та кількість листків мозочка досить сильно варіюють. Розміри (висота, ширина, довжина) листків та особливості групування листків у часточки можуть відображати функціональні особливості різних ділянок мозочка. Кількісні параметри листків мозочка залежать також від індивідуальної мінливості. Однак листок як об'єкт для морфометричного дослідження дотепер науковцями ще не розглядався.

Мета дослідження – провести морфометричне дослідження листків кори мозочка людини, виявити межі і закономірності індивідуальної мінливості кількісних параметрів кори мозочка в філогенетично різних його відділах.

Матеріал та методи дослідження. Морфологічне дослідження проведено на 50 мозочків осіб, що померли від причин, не пов'язаних із патологією центральної нервової системи. Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04. 04. 1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23. 09. 2009 р.. Висновок комісії з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету підтверджує, що дослідження проведено з дотриманням прав людини, відповідно до діючого в Україні законодавства, відповідає міжнародним етичним вимогам і не порушує етичних норм у науці та стандартів проведення біомедичних досліджень (протокол засідання комісії з питань етики та біоетики ХНМУ №10 від 07. 11. 2018).

Після вилучення головного мозку з черепної коробки мозочок фіксували в 10 % розчині формаліну, після чого проводили розтин черв'яка чітко по центральній сагітальній площині та по площинам, паралельним сагітальній на відстані 5 мм з обох боків від центральної площини. Отримані зрізи черв'яка мозочка товщиною 5 мм розділяли на блоки, які включали окремі часточки черв'яка. Із отриманих фрагментів виготовляли мікроскопічні препарати, які забарвлювали гематоксилином та еозином.

Проводили морфометричне дослідження за допомогою комп'ютерної програми «Image Tool».

На кожному окремому листку мозочка визначали висоту, максимальну та мінімальну ширину та різницю між ними, довжину гангліонарного шару, кількість клітин Пуркіньє (КП), щільність КП (кількість клітин на 1 мм гангліонарного шару), середню відстань між центрами КП. Вказані показники підраховували окремо для різних часточок мозочка та різних типів листків. Підраховувались показники на 100-150 листках сірої речовини в кожному мозочку.

Результати дослідження були оброблені методами математичної статистики з використанням пакету "Microsoft Excel'10". Визначали вибіркове середнє значення цих показників (M), його помилку (m), оцінювали розподіл варіант: визначали середнє квадратичне відхилення (σ), коефіцієнт варіації (CV), максимальне (max) та мінімальне (min) значення.

Достовірність відмінностей між групами визначали з використанням критеріїв Краскела-Уолліса та Данна. Достовірною вважали ймовірність похибки, яка менше чи дорівнює 5 % ($p \leq 0,05$). Проводився кореляційний аналіз: обчислювався коефіцієнт кореляції Пірсона (R) між значеннями морфометричних параметрів листків. Значимість коефіцієнту кореляції визначалась за допомогою критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Листок мозочка являє собою складку кори (звивину), розташовану на пластинці білої речовини. На зрізах мозочка, що проходять у площині, перпендикулярній напрямку звивин, складки кори мають вигляд листків, а пластинки білої речовини – вигляд гілок. Листок включає усі три шари кори мозочка (молекулярний, гангліонарний, зернистий), що лежать на основі із білої речовини (**рис. 1**). Деякі листки мають власний стержень білої речовини, який відходить від основної гілки білої речовини, на якій лежить листок. Центральний стержень може мати різні форму та розміри, які пов'язані із формою листка.

Для морфометричної оцінки будови листка ми запропонували використовувати наступні критерії: висота листка, мінімальна та максимальна ширина листка та різниця між ними, довжина гангліонарного шару, кількість клітин Пуркіньє на листку, середня відстань між центрами КП та щільність їх розташування. Для оцінки форми листка крім його лінійних розмірів використане співвідношення «висота/максимальна ширина». Дані морфометричного дослідження листків мозочка наведені в **таблиці 1**.

Під час проведення кореляційного аналізу було з'ясовано, що морфометричні параметри листків мозочка взаємопов'язані кореляційним зв'язком різної сили. Висота листка пов'язана сильним кореляційним зв'язком із довжиною гангліонарного



Рис. 1. Листок мозочка людини, забарвлення гематоксилином та еозином. 1 – верхівка листка, 2 – основна частина листка, 3 – основа листка, 4 – бічні межі листка, 5 – молекулярний шар кори, 6 – гангліонарний шар кори, 7 – зернистий шар кори, 8 – центральний стержень білої речовини (власна біла речовина листка)

шару ($R=0,959$; $P<0,05$) та різницею максимальної та мінімальної ширини листка ($R=0,703$; $P<0,05$). Мінімальна ширина листка пов'язана кореляційним зв'язком середньої сили із максимальною шириною

листка ($R=0,680$; $P<0,05$), із висотою листка ($R= -0,496$; $P<0,05$), із різницею мінімальної та максимальної ширини листка ($R= -0,520$; $P<0,05$). На відміну від мінімальної, максимальна ширина листка не має значущого кореляційного зв'язку із висотою листка ($R=0,045$; $P>0,05$). Отже, висота листка має значущий зв'язок із мінімальною шириною (чим листок вищий, тим менша його мінімальна ширина і навпаки), але не має статистично значущого зв'язку із максимальною шириною, що свідчить про незалежність цих параметрів. Співвідношення «висота/максимальна ширина» має сильний кореляційний зв'язок із довжиною гангліонарного шару ($R=0,773$; $P<0,05$), висотою листка ($R=0,882$; $P<0,05$) та кореляційний зв'язок середньої сили із мінімальною шириною листка ($R= -0,672$; $P<0,05$). Звертає на себе увагу особливість розподілу варіант: при необмеженій верхній межі довжини гангліонарного шару нижня межа лімітована шириною листка. Довжина гангліонарного шару пов'язана із співвідношенням «висота/максимальна ширина», що визначає особливості форми листка: чим вищий та вужчий листок, тим в нього більша довжина гангліонарного шару.

Враховуючи те, що листок розглядається як структурна одиниця мозочка, одним із найважливіших критеріїв, що характеризують листок, є кількість клітин Пуркіньє на листку (рис. 2).

Кількість КП може варіювати від 1 до 55. Як видно із даних рис. 2, розподіл частоти листків із різною кількістю КП асиметричний, переважають листки із малою кількістю клітин Пуркіньє (від 3 до 16).

Кількість КП на листку пов'язана сильним кореляційним зв'язком із висотою листка ($R=0,959$; $P<0,05$), довжиною гангліонарного шару ($R=0,785$; $P<0,05$), кореляційним зв'язком середньої сили із співвідношенням «висота/максимальна ширина» ($R=0,571$; $P<0,05$), різницею максимальної та

Таблиця 1. Статистична оцінка розподілу вибірових значень морфометричних показників листків мозочка

Показник	Статистичні критерії					
	M	m	S	CV, %	мін.	макс.
Висота листка, мкм	1727,94	55,94	842,82	48,78	324	5286
Мінімальна ширина листка, мкм	1514,64	49,04	492,16	32,49	670	3893
Максимальна ширина листка, мкм	1794,64	58,10	436,78	24,34	3893	3893
Співвідношення «висота/максимальна ширина»	1,009	0,03	0,52	51,85	0,25	3,77
Довжина гангліонарного шару, мкм	3992,52	129,26	1750,01	43,83	1205,00	11420,00
Кількість КП на листку	16,64	0,54	9,39	56,43	1	55
Середня відстань між центрами КП, мкм	280,85	9,09	162,56	57,88	91,11	2486,00
Кількість КП на 1 мм гангліонарного шару	4,17	0,14	1,43	34,22	0,40	10,98
Різниця максимальної та мінімальної ширини листка, мкм	280,01	9,07	375,18	133,99	0,00	1862,00
Різниця максимальної та мінімальної ширини листка, %	25,09	0,81	36,01	143,52	0,00	240,88

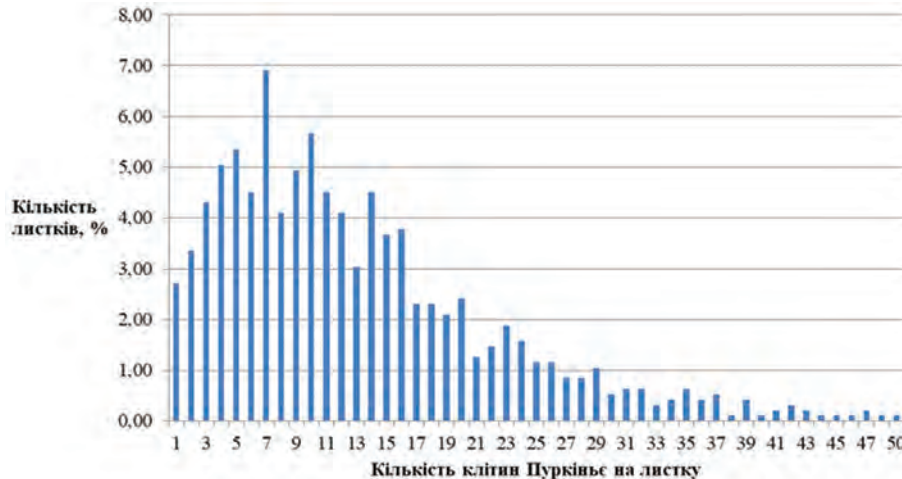


Рис. 2. Розподіл поширеності листків мозочка із різною кількістю клітин Пуркінє

мінімальної ширини листка ($R=0,586$; $P<0,05$), середньою відстанню між центрами КП ($R= -0,446$; $P<0,05$) та кількістю КП на 1 мм гангліонарного шару ($R=0,669$; $P<0,05$). Отже, найбільше кількість клітин Пуркінє пов'язана із довжиною гангліонарного шару листка, дещо менше – із висотою та співвідношенням «висота/максимальна ширина» і майже не залежить від ширини листка. Але середня відстань між центрами КП та кількість КП на 1 мм гангліонарного шару мають значущий зв'язок лише між собою ($R= -0,743$; $P<0,05$) та із загальною кількістю КП на листку ($R= -0,446$; $P<0,05$ та $R= 0,559$; $P<0,05$ відповідно).

Таким чином, морфометричні параметри листків досить сильно варіюють та залежать один від одного. Враховуючи цю особливість, ми вважаємо доцільним розділити листки на групи базуючись на морфометричних параметрах та формі листків.

Морфологічні зміни звин мозочка (листіків) виявлені при багатьох нейродегенеративних захво-

рюваннях, дисплазії мозочка. Зустрічається дезорганізація листків, їх малі розміри (мікрогірія) та відсутність листків (агірія). Також зустрічається дисгенез кори, порушення просторової орієнтації листків, гіпер- або гіпотрофія кори. Завдяки сучасним методам нейровізуалізації описані зміни в останні роки можуть бути виявлені прижиттєво та можуть бути використані для діагностики цих захворювань [15, 16].

Висновки

1. Листок є постійною структурою мозочка, яку можна розглядати як структурну або як структурно-функціональну одиницю мозочка.
2. Листок завжди включає сіру речовину – складку кори та іноді має власний центральний стержень білої речовини.
3. Будова листків може суттєво відрізнятись, що відображується у високій варіабельності морфометричних параметрів листків.
4. Під час проведення морфологічних досліджень мозочка рекомендовано враховувати особливості форми та будови листка, оскільки вони можуть суттєво впливати на морфометричні параметри листка та різних структур кори мозочка людини.

Перспективи подальших досліджень. На основі отриманих результатів планується дослідження особливостей будови листків мозочка у різних вікових та гендерних групах, а також за умов впливу різних патологічних факторів.

References

1. Kalinichenko SG, Motavkin PA. *Kora mozzhechka*. M: Nauka; 2005. 320 s. [Russian]
2. Afanasyev Yul, Yurina NA, Eds. *Gistologiya, embriologiya, tsitologiya*. M: Meditsina; 2018. 800 s. [Russian]
3. Lutsik OD, Ivanova AY, Kabak KS, Chaykovskiy YuB. *Gistologiya lyudini*. Kyiv: Kniga plyus; 2003. 592 s. [Ukrainian]
4. Kalinichenko SG. Modulnaya paradigma i problema strukturno-funktsionalnoy organizatsii mozzhechka. *Tihoekanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2016; 2(64): 42-8. [Russian]
5. Apps R, Hawkes R, Aoki S, Bengtsson F, Brown AM, Chen G, et al. Cerebellar modules and their role as operational cerebellar processing units. *The Cerebellum*. 2018; 17: 654–82. PMID: 29876802. PMCID: PMC6132822. doi: 10.1007/s12311-018-0952-3
6. Glickstein M, Doron K. Cerebellum: connections and functions. *Cerebellum*. 2008; 7: 589–94. PMID: 19002543. doi: 10.1007/s12311-008-0074-4
7. Ito M. *The cerebellum and neural control*. Raven Press; 1984. 580 p.
8. Cerminara NL, Lang EJ, Sillitoe RV, Apps R. Redefining the cerebellar cortex as an assembly of non-uniform Purkinje cell microcircuits. *Nat Rev Neurosci*. 2015; 16: 79–93. PMID: 25601779. PMCID: PMC4476393. doi.org/10.1038/nrn3886
9. Voogd J. The importance of fiber connections in the comparative anatomy of the mammalian cerebellum. In: Llinas R, editor. *Neurobiology of cerebellar evolution and development*. Chicago: AMA; 1969. p. 8771–85.

10. Ruigrok T.J. Ins and outs of cerebellar modules. *Cerebellum*. 2011; 10: 464–74. PMID: 20232190. PMCID: PMC3169761. DOI: 10.1007/s12311-010-0164-y
11. Apps R, Hawkes R. Cerebellar cortical organization: a one-map hypothesis. *Nat Rev Neurosci*. 2009; 10: 670–81. PMID: 19693030. doi: 10.1038/nrn2698
12. Cerminara NL, Aoki H, Loft M, Sugihara I, Apps R. Structural basis of cerebellar microcircuits in the rat. *J Neurosci*. 2013; 33: 16427–42. PMID: 24133249. PMCID: PMC3797368. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0861-13.2013
13. Welker WI. The significance of foliation and fissuration of cerebellar cortex. The cerebellar folium as a fundamental unit of sensorimotor integration. *Arch Ital Biol*. 1990; 128(2-4): 87–109.
14. Llinas RR, Walton KD, Lang EJ. Ch. 7. Cerebellum. In: Shepherd GM, Ed. *The Synaptic Organization of the Brain*. NY: Oxford University Press; 2004. doi: 10.1093/acprof:oso/9780195159561.003.0007
15. Demaerel P. Abnormalities of cerebellar foliation and fissuration: classification, neurogenetics and clinicoradiological correlations. *Neuroradiology*. 2002; 44: 639–46. PMID: 12185541. doi: 10.1007/s00234-002-0783-1
16. Poretti A, Boltshauser E, Doherty D. Cerebellar hypoplasia: Differential diagnosis and diagnostic approach. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*. 2014; 166: 211–26. PMID: 24839100. doi: 10.1002/ajmg.c.31398

УДК 611.817.1

ЛИСТОК КАК СТРУКТУРНАЯ ЕДИНИЦА МОЗЖЕЧКА ЧЕЛОВЕКА**Марьенко Н. И., Степаненко А. Ю.**

Резюме. Кора мозжечка является четко структурированной частью нервной системы. Сейчас структурно-функциональной единицей коры мозжечка считают модуль, который не может исчерпывающе описать принцип его структурно-функциональной организации на разных уровнях: от макроскопического до микроскопического. Одной из структур, которую можно рассматривать как структурную единицу мозжечка, является листок.

Цель исследования – провести морфометрические исследования листков коры мозжечка человека, выявить границы и закономерности индивидуальной изменчивости количественных параметров коры мозжечка в филогенетически различных его отделах. Морфологическое исследование проведено на 50 мозжечках людей, умерших от причин, не связанных с патологией центральной нервной системы. Проводили морфометрические исследования с помощью компьютерной программы «Image Tool». На каждом отдельном листке мозжечка определяли высоту, максимальную и минимальную ширину и разницу между ними, длину ганглионарного слоя, количество клеток Пуркинье, плотность клеток Пуркинье (количество клеток в 1 мм ганглионарного слоя), среднее расстояние между центрами клеток Пуркинье.

Подсчитывались показатели на 100-150 листках серого вещества в каждом мозжечке. В результате морфометрического исследования листков выяснено, что средняя высота листка составляет $1727,94 \pm 55,94$ мкм, минимальная ширина листка – $1514,64 \pm 49,04$ мкм, максимальная ширина листа – $1794,94 \pm 58,10$ мкм, соотношение «высота / максимальная ширина» – $1,009 \pm 0,03$, длина ганглионарного слоя – $3992,52 \pm 129,26$ мкм, разница максимальной и минимальной ширины листа – $25,09 \pm 0,81\%$. Количество КП может варьировать от 1 до 55, преобладают листки с малым количеством клеток Пуркинье (от 3 до 16).

Итак, листок является постоянной структурой мозжечка, которую можно рассматривать как структурную или как структурно-функциональную единицу мозжечка. Листок всегда включает серое вещество – складку коры и иногда имеет собственный центральный стержень белого вещества. Однако строение листков может существенно отличаться, что отображается в высокой вариабельности морфометрических параметров листков.

Ключевые слова: мозжечок, листок мозжечка, структурная единица.

UDC 611.817.1

Folium as a Structural Unit of the Human Cerebellum**Maryenko N. I., Stepanenko O. Yu.**

Abstract. The cerebral cortex is a clearly structured part of the nervous system. Currently, the structural and functional unit of the cerebral cortex is considered a module that cannot comprehensively describe the principle of its structural and functional organization at different levels: from macroscopic to microscopic. Folium is one of the structures that can be considered the structural unit of the cerebellum.

The purpose of the work is to study morphometric parameters of human cerebral folia, to identify the limits and patterns of individual variability in the quantitative parameters of the cerebral cortex in its phylogenetically different regions.

Material and methods. Morphological study was performed on 50 cerebella of people who died from causes not related to pathology of the central nervous system. The morphometric study was conducted using the Image Tool program. The height, maximum and minimum width and difference between them, the length of the ganglion layer, the number of Purkinje cells, the density of the Purkinje cells (the number of cells per 1 mm of the ganglion layer), the average distance between the centers of the Purkinje cells were determined on each individual folium of the cerebellum. 100-150 folia of gray matter in each cerebellum were investigated.

Results and discussion. Morphometric examination of the cerebellar folia revealed that the average height of the folium was $1727.94 \pm 55.94 \mu\text{m}$, the minimum width of the folium was $1514.64 \pm 49.04 \mu\text{m}$, the maximum width of the folium was $1794.94 \pm 58.10 \mu\text{m}$, the ratio "Height / maximum width" – 1.009 ± 0.03 , length of ganglionic layer was $3992.52 \pm 129.26 \mu\text{m}$, difference of maximum and minimum width of the folium was $25.09 \pm 0.81 \%$. The number of Purkinje cells can vary from 1 to 55, the frequency distribution of folia with different amounts of Purkinje cells is asymmetric, dominated by folia with a small number of Purkinje cells (3 to 16).

Conclusion. Therefore, the folium is a permanent structure of the cerebellum, which can be regarded as a structural or structural and functional unit of the cerebellum. The folium always includes gray matter – the fold of the cortex and sometimes has its own central core of white matter. However, the structure of the folia may be significantly different, which is reflected in the high variability of the morphometric parameters of the cerebellar folia.

Keywords: cerebellum, cerebellar folium, structural unit.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 30.07.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування