

УДК 611.817.18:572.087

Д. Н. Шиян

Гистологический метод окраски ядер мозжечка.

Кафедра анатомии человека (зав. кафедрой проф. – Терешенко А. А.)

Харьковского национального медицинского университета

Украина, г. Харьков, пр. Ленина, 4, 61022

den.doctor@rambler.ru

Данное исследование выполнено в соответствии с тематическим планом научных исследований Харьковского национального медицинского университета МОЗ Украины в рамках научно-исследовательской темы кафедры анатомии человека «Морфологічні особливості ендокринної системи, нервової та судинної систем в нормі та під впливом деяких чинників» (номер гос. регистрации 0108U007050). Автор является ответственным за исследование центральной нервной системы.

Вступление. В настоящее время огромное развитие получили исследования в области нейроанатомии, как науки и учебной дисциплины, где накоплен достаточно обширный фактический материал с учетом современных достижений [1, 4, 8].

Изучение структурно-функциональной организации мозжечка и его проводящих путей явилось предметом исследований многих авторов [3, 6, 7, 10]. Однако, работы этих и других авторов, посвященные изучению структуры коры и ядер мозжечка, содержат противоречивые и спорные положения, требующие своего разрешения. Сведения о возрастных и индивидуальных особенностях строения ядер мозжечка в постнатальном онтогенезе слабо представлены в доступной печати и во многом противоречивы [2, 7, 10]. В изучении морфологии структур центральной нервной системы существует множество методов исследования [1, 3, 4, 10]. На современном уровне существует огромное

количество различных морфологических методов исследования: импрегнация по Гросс-Бильшовскому, методы Гомори, Фалька-Хилларпа, Шубига-Ходоса, осьмий-цинк-йодид по Хабонеро-Перец-Кизас и многие другие. Однако далеко не все они позволяют видеть объективную картину строения структур нервной системы, а также достоверно оценить полученную информацию.

**Цель исследования:** установить возможность применения способа окраски нервных волокон гистологического препарата (Пат. № 65245 от 25.11.2011г.) при изучении структурной организации ядер мозжечка [5].

**Материал и методы.** Материалом исследования послужили гистологические препараты серий срезов мозжечков, полученных от 34 трупов, включающих участки извилин коры, белого вещества и ядер мозжечка. С каждого блока делали тотальные поперечные ступенчатые серийные срезы толщиной 5 – 20 мкм. В данной работе были использованы макромикроскопические, морфометрические, гистологические методы исследования (окраска гематоксилин-эозином, импрегнация по Бильшовскому-Грос, Гольджи-Дейнека, Крутсай, Гомори, Вейгерта-Паля, Кульчицкого), способ окраски нервных волокон гистологического препарата (Пат. № 65245 от 25.11.2011г.), методы статистического анализа.

**Результаты и обсуждение.** Белое вещество занимает в мозжечке центральное положение. В белом веществе расположены четыре центральных подкорковых ядра мозжечка, тесно связанные с корой мозжечка. К ядрам мозжечка относят ядро шатра, шаровидное, пробковидное и самое крупное - зубчатое ядро. Зубчатое ядро представляет собой достаточно большое образование серого вещества в белом веществе полушарий мозжечка, которое по своей структурной организации существенно отличается от серого вещества коры. На продольном срезе оно образовано зигзагообразно идущей пластинкой

серого вещества, расположенного в белом веществе полушарий.

В данном исследовании мы не будем останавливаться на описании результатов, полученных при использовании ряда известных распространенных гистологических методов окраски нервной ткани.

В ходе данной работы нами был использован способ окраски нервных волокон гистологического препарата. При использовании окраски данным методом граница коры, ядер мозжечка и белого вещества особенно четко выражена. Тела крупных и мелких нейроцитов строго дифференцированы. Ядро каждой нервной клетки резко выраженный контраст и четкий контур, окруженный более светлой протоплазмой, содержащей мелкую нислевскую зернистость, которая окрашивается в коричневый цвет. Мелкие клетки рассеяны в толще ядер мозжечка между крупными клетками. Дендриты и аксоны этих клеток светло-коричневого цвета, короткие и разветвляются около дендритов крупных нейронов. Аксоны клеток обложены миелином уже в сером веществе зубчатого ядра и дают коллатерали, разветвляющиеся возле глиозных клеток. Миелиновые оболочки нервных волокон окрашиваются в иссиня-черный цвет и хорошо выделяются на общем фоне, благодаря чему возможно проследить ход следования и направление отдельно взятого нервного волокна (Рис. 1). Мышечная ткань насыщенного красно-коричневого цвета, что способствует высокой дифференцировке сосудистого русла. Оболочки кровеносных сосудов послойно дифференцируются по цвету, эритроциты принимают темно коричневую иногда черную окраску. Соединительная ткань – от розового до ярко-красного. Безмиелиновые нервные волокна отчетливо окрашены в коричневый цвет, как в толще ядер мозжечка, так и на стенках капиллярного русла. При микроскопическом изучении срезов зубчатого ядра мозжечка видно разветвленную сеть капилляров и различные соотношения нервной клетки с капиллярами (Рис. 2).

На гистологических препаратах, окрашенных по данному методу, нами установлено, что нервные клетки ядер мозжечка и капилляры, прилегающие к ним, снабжены синапсами.

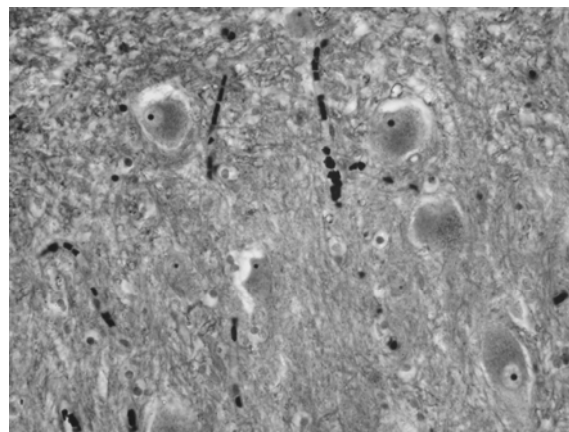
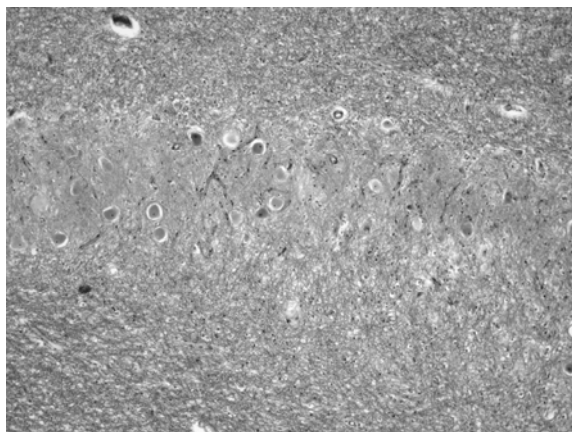


Рис. 1. Микрофотография зубчатого ядра. Окраска описанным методом. Ув. x100	Рис. 2. Микрофотография зубчатого ядра. Окраска описанным методом. Ув. x400
---	---

Данные, полученные в результате применения способа окраски нервных волокон гистологического препарата (Пат. № 65245 от 25.11.2011г.) значительно дополняют имеющиеся сведения об особенностях морфологической структуры ядер мозжечка. В дальнейшем планируется детально, с учетом большого количества морфологических признаков, изучить морфологические особенности нейронов ядер мозжечка в онтогенезе.

#### **Выводы.**

Сравнительный анализ различных гистологических методов окраски ядер мозжечка для исследования их структурной организации показал целесообразность использования гистологического метода, запатентованного Харьковским национальным медицинским университетом «Способ окраски нервных волокон гистологического препарата» (Пат. № 65245 от 25.11.2011г.).

## Литература.

1. Ахмедов Р. Л. Возрастные, индивидуальные изменения морфологических и морфометрических параметров коры мозжечка у человека : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.02 / Р. Л. Ахмедов ; Санкт-Петербург. гос. педиатр. мед. академия. – СПб., 2007. – 20 с.
2. Дьяченко О. П. Анатомия идентичных объектов и сосуды мозжечка человека / О. П. Дьяченко // Український медичний альманах. – 2008. – Т. 11, № 3. – С. 52–54.
3. Дьяченко О. П. Морфологія мозочка людини / О. П. Дьяченко // Таврический медико-биологический вестник. – 2008. – Т. 11, № 4. – С. 244–248.
4. Калиниченко С. Г. Кора мозжечка : монография / С. Г. Калиниченко, П. А. Мотавкин ; [отв. ред. В. В. Куприянов] ; Рос. акад. наук, Дальневост. отд-ние, ин-т биологии моря, Владивост. гос. мед. ун-т. – М. : Наука, 2005. – 318 с.
5. Пат. 65245 Україна МПК G01N 1/30. Спосіб забарвлювання нервових волокон гістологічного препарату / Кихтенко О. В.; Коробова Л. К.; Лупир В. М.; Лупир М. В.; заявник та патентовласник Харківський національний медичний університет. – № u201107297 ; заявл. 09.06.2011 ; опубл. 25.11.2011, Бюл. № 22.
6. Соловьев С. В. Масса и линейные размеры мозжечка человека / С. В. Соловьев // Морфология. – 2005. – № 2. – С. 36 – 38.
7. Степаненко А. Ю. Вариантная анатомия и индивидуальная изменчивость макроанатомических показателей мозжечка человека / А. Ю. Степаненко // Медицина сьогодні і завтра. – 2010. – № 2/3. – С. 81–87.
8. Хубутя Б. И. Морфологические особенности мозжечка человека // Российский медико-биологический вестник им. И. П. Павлова. – 2000 №1/2. – С. 65–67.
9. Цехмистренко Т. А. Индивидуальная вариабельность и латеральная

асимметрия толщины коры мозжечка человека от рождения до 20 лет / Т. А. Цехмистренко // Морфология. – 2008. – Т. 133, № 4. – С. 100.

10. Цехмистренко Т. А. Компьютерный анализ темпов роста нейронов функционально различных зон коры большого мозга и мозжечка человека от рождения до 20 лет / Т. А. Цехмистренко // Российские морфологические ведомости. – 1997. – № 2/3. С. 135–136.

Summary. Histological method for staining nuclei of the cerebellum. D.N. Sheyan.

There are many different methods of morphological study of the nervous system components. However, not all of them can see objectively picture of the structure of the nervous system structures, as well as to reliably estimate the receiving information. The purpose of this work - to establish the method of the study of nerve fibers in the neurovascular bundles of different tissue structures in a study of the structural organization of the nuclei of the cerebellum (Patent number 65245 from 25.11.2011y.). The materials for investigations were used the histologic series of cerebellum sections obtained from 34 cadavers.

The comparative analysis of different histological methods of staining cerebellar nuclei to study their structural organization showed the feasibility of using histological method patented by Kharkiv National Medical University, "The methods of nerve fibers in the neurovascular bundles of different tissue's structures" (Patent number 65245 from 25.11.2011g.).

Keywords: histological staining method, the nuclei of the cerebellum.

Резюме. Гістологічний метод забарвлення ядер мозочка. Д.М. Шиян.

Існує велика кількість різноманітних морфологічних методів дослідження компонентів нервової системи. Однак далеко не всі вони дозволяють бачити об'єктивну картину будови нервової системи та вірно оцінити отриману інформацію. Мета даного дослідження – встановити можливість використання способу забарвлювання нервових

волокон гістологічного препарату (Пат. № 65245 від 25.11.2011р.) при вивченні структурної організації ядер мозочка. Матеріалом дослідження є гістологічні препарати серій зрізів мозочка, отриманих від 34 трупів.

Порівняльний аналіз різноманітних гістологічних методів забарвлення ядер мозочка для дослідження їх структурної організації показав використання гістологічного метода запатентованим Харківським національним медичним університетом «Спосіб забарвлювання нервових волокон гістологічного препарату» (Пат. № 65245 від 25.11.2011р.).

Ключові слова: гістологічний метод забарвлення, ядра мозочка.

Резюме. Гистологический метод окраски ядер мозжечка. Д. Н. Шиян.

Существует огромное количество различных морфологических методов исследования компонентов нервной системы. Однако далеко не все они позволяют видеть объективную картину строения структур нервной системы, а также достоверно оценить полученную информацию. Цель данного исследования - установить возможность применения способа окраски нервных волокон гистологического препарата (Пат. № 65245 от 25.11.2011г.) при изучении структурной организации ядер мозжечка. Материалом исследования послужили гистологические препараты серий срезов мозжечков, полученных от 34 трупов.

Сравнительный анализ различных гистологических методов окраски ядер мозжечка для исследования их структурной организации показал целесообразность использования гистологического метода запатентованным Харьковским национальным медицинским университетом «Способ окраски нервных волокон гистологического препарата» (Пат. № 65245 от 25.11.2011г.).

Ключевые слова: гистологический метод окраски, ядра мозжечка.

Аннотация.

Д. Н. Шиян

Гистологический метод окраски ядер мозжечка.

В настоящее время огромное развитие получили исследования в области нейроанатомии, как науки и учебной дисциплины, где накоплен достаточно обширный фактический материал с учетом современных достижений.

Изучение структурно-функциональной организации мозжечка и его проводящих путей явилось предметом исследований многих авторов. Однако, работы этих и других авторов, посвященные изучению структуры коры и ядер мозжечка, содержат противоречивые и спорные положения, требующие своего разрешения. На современном уровне существует огромное количество различных морфологических методов исследования: импрегнация по Гросс-Бильшовскому, методы Гомори, Фалька-Хилларпа, Шубига-Ходоса, осьмий-цинк-йодид по Хабонеро-Перец-Кизас и многие другие. Однако далеко не все они позволяют видеть объективную картину строения структур нервной системы, а также достоверно оценить полученную информацию.

**Цель исследования:** установить возможность применения способа окраски нервных волокон гистологического препарата (Пат. № 65245 от 25.11.2011г.) при изучении структурной организации ядер мозжечка.

**Материал и методы.** Материалом исследования послужили гистологические препараты серий срезов мозжечков, полученных от 34 трупов, включающих участки извилин коры, белого вещества и ядер мозжечка. В данной работе были использованы макромикроскопические, морфометрические, гистологические методы исследования (окраска гематоксилин-эозином, импрегнация по Бильшовскому-Грос, Гольджи-Дейнека, Крутсай, Гомори, Вейгерта-Паля, Кульчицкого), способ окраски нервных волокон



гистологического препарата (Пат. № 65245 от 25.11.2011г.), методы статистического анализа.

При использовании окраски данным методом граница коры, ядер мозжечка и белого вещества особенно четко выражена. Тела крупных и мелких нейроцитов строго дифференцированы. Ядро каждой нервной клетки резко выраженный контраст и четкий контур, окруженный более светлой протоплазмой, содержащей мелкую нислевскую зернистость, которая окрашивается в коричневый цвет. Мелкие клетки рассеяны в толще ядер мозжечка между крупными клетками. Дендриты и аксоны этих клеток светло-коричневого цвета, коротки и разветвляются около дендритов крупных нейронов. Аксоны клеток обложены миелином уже в сером веществе зубчатого ядра и дают коллатерали, разветвляющиеся возле глиозных клеток. Миелиновые оболочки нервных волокон окрашиваются в иссиня-черный цвет и хорошо выделяются на общем фоне, благодаря чему возможно проследить ход следования и направление отдельно взятого нервного волокна. Мышечная ткань насыщенного красно-коричневого цвета, что способствует высокой дифференцировке сосудистого русла. Оболочки кровеносных сосудов послойно дифференцируются по цвету, эритроциты принимают темно коричневую иногда черную окраску. Соединительная ткань – от розового до ярко-красного. Безмиелиновые нервные волокна отчетливо окрашены в коричневый цвет, как в толще ядер мозжечка, так и на стенках капиллярного русла. При микроскопическом изучении срезов зубчатого ядра мозжечка видно разветвленную сеть капилляров и различные соотношения нервной клетки с капиллярами.

Сравнительный анализ различных гистологических методов окраски ядер мозжечка для исследования их структурной организации показал целесообразность использования гистологического метода «Способ окраски нервных волокон гистологического препарата»

(Pat. № 65245 от 25.11.2011г.).

Annotation.

D.N. Sheyan.

Histological of the colouring method staining of the cerebellar nuclei.

At the present the research of neuroanatomy as a science and discipline have received the vast development. It accumulates extensive factual material-of the modern developments. The structural and functional organization of the cerebellum and its pathways has been the subject of research by many authors. However, the works of other authors which are devoted to the study of the structure of the cortex and the cerebellar nuclei contain contradictory and questionable states that must be solved. At the present level there are the huge numbers of different morphological studies: impregnatsia by Grosse-Bilshovsky, methods by Gomory, by Falk-Hillarpa, by Shubiga-Hodos, osmiy-zinc-iodide by Habonero-perec-Qisas and many others. However, not all of them allow you to see an objective picture of the structure of the parts of the nervous system, as well as to estimate the information reliably. The aim of research: to establish that the method of the study of nerve fibers in the neurovascular bundles of different tissues (Patent number 65245 from 25.11.2011g.) is possible in a study of the structural organization of the nuclei of the cerebellum. Materials and methods. The histological preparations of the microscopic sections of the cerebellums, including parts of the cerebellar cortex, white matter and nuclei of the cerebellum were obtained from 34 corpses. In this work we used macro-microscopic, morphometric, histological methods (painting by hematoxylin-eosin, impregnation by Grosse-Bilshovsky, by Golgi Deineka, by Krutsay, by Gomori, by Weigert-Pal by Kulchitsky), method of research of nerve fibers in neurovascular bundles of different tissues

(Patent number 65245 from 25.11.2011g.), methods of statistical analysis. Using of this coloration method the borders of the cortex, cerebellar nuclei and white matter are very clearly defined. The bodies of large and small neurocytes are differentiated exactly. The nucleus of each nerve cell has pronounced contrast and a clear contour, surrounded by more lighter cytoplasm containing small nisslevskuy grain which is coloured brown. Small cells are scattered in the interior of the cerebellar nuclei between the large cells. Dendrites and axons of these cells are coloured light brown, they are short and branch near the dendrites of large neurons. The axons of the cells are covered by myelin in grey matter of the dentate nucleus and give collaterals, branching near the glial cells. The myelin sheathes of nerve fibers are colored in dark-black color and are good visible, making possible to trace the route and direction of a single nerve fiber. Muscular tissue is coloured rich red-brown, which contributes to the high differentiation of the vascular bed. The coats of blood vessels are differentiated by color, red blood cells take dark brown sometimes black colour. Connective tissue is coloured from pink to bright red. The nerve fibres devoid of myelin are coloured brown in the interior of the cerebellar nuclei and on the walls of the capillary bed. A microscopic study of the sections of the dentate nucleus shows an rich network of capillaries and different correlations of the nerve cell and the capillaries. Comparative analysis of different histological methods of the colouring of the cerebellar nuclei to study their structural organization showed the expediency of the using histological method "Method of study of nerve fibers in the neurovascular bundles of different tissue structures" ( Patent number 65245 from 25.11.2011g.).