

положительными жемчужинами.

Summary

ASSESSMENT OF EXPRESSION OF PROLIFERATION MARKERS KI67 AND CYCLIN D1 IN KERATINIZING SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF LUNG

Filenko B.N., Royko N.V., Proskurnya S.A.

Key words: keratinizing squamous cell carcinoma of lung, proliferation, immunohistochemistry.

Studying proliferative activity of neoplastic cells by immunohistochemistry has important informative value for the study of morphogenesis and prognosis of cancer. The paper was aimed to assess the expression value of proliferation markers Ki67 and cyclin D1 in the morphogenesis of keratinizing squamous cell carcinoma of lung. During immunohistochemical study monoclonal antibodies Ki67 and cyclin D1 were used. The study allowed us to establish a common pattern of proliferation marker expression in keratinizing squamous cell carcinoma of lung. The highest proliferative activity was observed in cancer complexes with lipid-positive pearls that corresponded to 24% and 34% of immunohistochemical labeling cells with cyclin D1 and the markers Ki67 respectively. Reducing the ability of cells division was changing towards the acquiring cytodifferential characteristics, representing 21% and 22% of immunohistochemical labeling in complexes with PAS-positive pearls and 12% and 18% in the form of thionine-positive pearls.

УДК 611.817.18:572.087

Шиян Д.Н.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ ЯДЕР И ПРОВОДЯЩИХ ПУТЕЙ МОЗЖЕЧКА

Харьковский национальный медицинский университет

Изучением морфологических особенностей подкорковых узлов головного мозга занимались многие исследователи. На сегодня метод препарирования головного мозга претерпел существенные изменения, благодаря чему были описаны и детально изучены различные его отделы. В то же время авторы совершенно недостаточно использовали макро-микроскопический метод. Исследование проведено на 340 препаратах мозжечка людей, умерших в возрасте от 20 до 99 лет. В работе заявлен способ исследования ядер и проводящих путей мозжечка, включающий предварительную обработку, благодаря которой препарат сохраняет свои топографоанатомические особенности, способен долгое время храниться, эластичен, серое вещество приобретает контрастную насыщенную окраску и четко дифференцируется с белым веществом, проводящие пути легко препарировать макромикроскопическим методом под бинокулярной лупой по В. П. Воробьеву. Может быть использован при изучении строения структур серого и белого вещества ЦНС.

Ключевые слова: мозжечок, ядра мозжечка, морфология.

Данная работа является фрагментом НИР «Морфологічні особливості органів і систем тіла людини на етапах онтогенезу», № гос. регистрации 0144U004149.

Изучением морфологических особенностей подкорковых узлов головного мозга занимались многие исследователи [1, 7, 15, 16]. Одной из первых работ, в которой имеются рисунки головного мозга, изготовленного методом препарирования, была работа Виессенса (Viessens, 1685) [2, 5]. На сегодня метод препарирования головного мозга претерпел существенные изменения, благодаря чему были описаны и детально изучены различные его отделы [3, 8, 14, 17]. Методы препарирования головного мозга довольно разнообразны, начиная от обычного препарирования, т.н. расщипывания, и заканчивая современными методами макро-микроскопического препарирования под бинокулярной лупой. Так, Розетт (Rosett, 1933) для изучения проводящих путей головного мозга проводил их автоматическое внутреннее расслоение путем градуированных взрывов ткани головного мозга при помощи углекислоты [4]. С. Б. Дзугаева в 1939 г. разработала способ предварительной обработки мозга, с помощью которого, методом расщипывания, выполнила ряд препаратов

проводящих путей головного мозга [6].

В. А. Бец, положивший основу изучения цитоархитектоники головного мозга, указывал на необходимость восполнить пробел между анатомическими и гистологическими исследованиями [6]. Большинство работ по изучению мозга посвящено или макроскопической анатомии или гистологии этих образований [9, 11, 13]. В то же время авторы совершенно недостаточно использовали макро-микроскопический метод, предложенный академиком В. П. Воробьевым и усовершенствованный в дальнейшем его учениками [10, 12]. Под «макро-микроскопической областью» принято считать область, которая лежит между полем зрения анатома и полем зрения гистолога. К этой же области относятся также образования, сделать которые видимыми препятствует нечеткость их границ, а поэтому их форма, строение, топография не могут быть обнаружены макроскопически.

Цель исследования

Разработать новый и более приемлемый в

современной нейроморфологии метод исследования ядер и проводящих путей мозжечка.

Объект и методы исследования

Исследование проведено на 340 препаратах мозжечка людей, умерших в возрасте от 20 до 99 лет. В данной работе были использованы макромикроскопический (препарирование под бинокулярной лупой по В. П. Воробьеву), морфометрический.

Результаты исследования и их обсуждение

Макромикроскопический метод препарирования под бинокулярной лупой по В. П. Воробьеву остается до настоящего времени в сущности единственным, позволяющим обнаружить морфологические особенности подкорковых образований с учетом всех мельчайших деталей и их топографии (например, ядра мозжечка), более детально описать ход и особенности строения нервных волокон головного мозга. Более широкое применение этого метода дает возможность углубить и расширить исследование морфологии мозжечка и его ядер.

Так, препараты ядер мозжечка, полученные макро-микроскопическим методом, дают возможность видеть сам объект с морфологическими деталями, его форму, величину и топографо-анатомические взаимоотношения, дают натуральные соотношения.

Для исследования ядер мозжечка макромикроскопическим методом препарирования под бинокулярной лупой по В.П. Воробьеву существенную роль играет предварительная обработка мозжечка. Так как мозжечок в нефиксированном состоянии совершенно непригоден для препарирования его ядер и проводящих путей, нами разработан способ предварительной обработки, который придает препарату необходимую эластичность и позволяющий хорошо его

фиксировать.

После вскрытия черепа головной мозг извлекается таким образом, что ножки мозга, ствол и мозжечок остаются нетронутыми, тем самым сохраняется их естественное топографоанатомическое положение. После чего под намет мозжечка через шприц наливаем 10% раствор формалина, так, чтобы все пространство между мозжечком и твердой мозговой оболочкой было заполнено. По видимым артериям (задние мозговые или базилярная артерии) через канюлю без особого усилия проводим их наполнение 5-10% формалином. Такого рода предварительная фиксация должна длиться не менее 1 часа, далее следует осторожно извлечь мозжечок вместе со стволом и как можно большей частью спинного мозга, пересекая его как можно глубже. Следует отметить, что при извлечении мозжечка из задней черепной ямки нельзя оттягивать его за полушария, чтобы не деформировать их. Извлеченный таким образом комплекс подвешиваем за спинной мозг и погружаем на время от трех до пяти суток в сосуд с 10 % раствором формалина, таким образом, чтобы он находился по центру сосуда и не прикасался к его стенкам. Уплотненный таким образом мозжечок промываем проточной водой 2-3 минуты (для устранения запаха формалина). Подвергаемый такой обработке мозг уплотняется, но для препарирования нервных волокон белого вещества необходимо, чтобы волокна кроме плотности приобретали бы и эластичность, для этого мы подвергаем мозг специальной обработке.

Препарат переносят в раствор, состоящий из 400 мл дистиллированной воды, 200 мл 40-50% спирта (C_2H_5OH) 400 мл чистого глицерина (пропан-1,2,3-триол), 20 г поваренной соли ($NaCl$), 20 г соли аммония (NH_4Cl) и 0,5 г пепсина (можно не животного происхождения).



Рис. 1. Ядра мозжечка. Висцеральная поверхность. Мужчина, 48 лет. Макромикроскопический метод препарирования под бинокулярной лупой по В.П. Воробьеву с предварительной обработкой по описанному способу.



Рис. 2. Ядра мозжечка. Дорсальная поверхность. Женщина, 54 года. Макромикроскопический метод препарирования под бинокулярной лупой по В.П. Воробьеву с предварительной обработкой по описанному способу.

В этом растворе мозжечок находится минимум 5 дней, для сокращения времени следует удалить оставшиеся оболочки мозжечка. При более длительном пребывании в этом растворе

мозжечок не теряет приобретенную эластичность, в отличие от других способов обработки мозга. В этом растворе мозг может оставаться длительное время, а препарировать можно на-

чинать на 2-3 день обработки. При этой фиксации пепсин в присутствии соли аммония и поваренной соли частично разрушает белковую структуру ткани мозжечка. Благодаря тому, что клеточная масса мозжечка раньше разрушается, чем масса его проводящих путей, препарат приобретает необходимую эластичность. Нервные элементы делаются более плотными, между тем как соединительная ткань, связывающая их между собой, размягчается. Так же предлагаемый раствор способствует сохранению окраски серого вещества мозжечка, которое приобретает контрастную насыщенную сероватую окраску и четко дифференцируется с белым веществом на протяжении всего периода хранения (рис. 1).

Хорошие результаты получаются при обработке вышеуказанным способом и старого фиксированного в формалине мозжечка (рис. 2).

Выводы

Таким образом, в заявляемом способе исследования ядер и проводящих путей мозжечка используется предварительная обработка мозга, благодаря которой препарат сохраняет свои топографоанатомические особенности, способен долгое время храниться, эластичен, серое вещество приобретает контрастную насыщенную окраску и четко дифференцируется с белым веществом, проводящие пути легко препарировать макромикроскопическим методом под бинокулярной лупой по В. П. Воробьеву. Может быть использован при изучении строения структур серого и белого вещества ЦНС.

Перспективы дальнейших исследований

Результаты, полученные в ходе выполнения данного исследования, будут использованы при выполнении ряда научных работ Харьковского национального медицинского университета. Так же, в патологоанатомической службе с целью выявления патологических процессов в подкорковых образованиях мозжечка, детализация зон поражения мозжечка. По макромикроскопическим препаратам ядер мозжечка, полученных данным способом, разработана их компьютерная 3D модель, позволяющая выполнять реконструкцию ядер мозжечка с последующим применением данных результатов при проведении компьютерного томографического исследования головного мозга и мозжечка.

Литература

1. Бехтерев В. М. Проводящие пути спинного и головного мозга: руководство к изучению внутренних связей мозга. В 2 ч. Ч. 2: Волокна мозжечка, волокна мозговых полусферий и общий обзор проводящих систем / В. М. Бехтерев. – 2-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург, 1898. – 383 с.
2. Вербицкая Л. Б. Цитоархитектоника коры и ядер мозжечка человека в онтогенезе : автореф. дис. на соискание научной степени канд. мед. наук : спец. 14.00.02 «Анатомия человека» / Вербицкая Лидия Борисовна. - АМН СССР. – Москва, 1966. – 19 с.
3. Виллигер Э. Головной и спинной мозг: пособие по изучению морфологии и хода волокон / Э. Виллигер; пер. с 10-го немецкого издания М. М. Аникина и Э. В. Шмидта. – Москва ; Ленинград : Гос. изд-во, 1930. – 375 с.

4. Гавашели О. А. К методике исследования ядра мозжечка человека / О. А. Гавашели // Вопросы морфологии нервной системы / под ред. В. Н. Терновского. – Москва : Медгиз, 1960. – С. 224–230.
5. Гренадеров Ю. В. К методике изучения внутриорганных сосудов мозга / Ю. В. Гренадеров // Вопросы морфологии нервной системы / под ред. действ. члена АМН СССР В. Н. Терновского. – Москва : Медгиз, 1960. – С. 219–223.
6. Козлова Г. П. Индивидуальная анатомическая изменчивость ядер мозжечка / Г. П. Козлова // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1980. – Т. 79, вып. 79. – С. 16–21.
7. Комароми Л. Вскрытие головного мозга : путеводитель по топографической анатомии и по технике проведения вскрытия / Л. Комароми. – Будапешт : АН Венгрии, 1961. – 123 с.
8. Кононова Е. П. Мозжечок / Е. П. Кононова // Многоотное руководство по неврологии / ред. И. Н. Филимонов. – Москва : МЕДГИЗ, 1959. – Т. 1 : Анатомия и гистология нервной системы. – С. 389–143.
9. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – 4-е изд. – Ленинград : Медгиз, 1961. – 343 с.
10. 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. – u021007778 ; заявл. 21.06.2010 ; опубл. 10.12.2010, Бюл. № 23.
11. Соловьев С. В. Методика исследования серого вещества мозжечка человека / С. В. Соловьев, Б. И. Хубутия, С. П. Герасин // Российский медико-биологический вестник им. И. П. Павлова. – 2000. – № 1/2. – С. 185–186.
12. Шиян Д. Н. Гистологический метод окраски ядер мозжечка / Д. Н. Шиян // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 1, ч. 1. – С. 251–253.
13. Akakin A. 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. – Vol. 74, № 4. – P. 401–425.
14. Green M. J. Developmental origins of diversity in cerebellar output nuclei [Electronic resource] / M. J. Green, R. J. Wingate // Neural Dev. – 2014. – Vol. 9. – DOI: 10.1186/1749-8104-9-1.
15. Grimaldi G. Topography of cerebellar deficits in humans / G. Grimaldi, M. Manto // Cerebellum. – 2012. – Vol. 11, № 2. – P. 336–351.
16. Saab C. Y. The cerebellum: organization, functions and its role in nociception / C. Y. Saab, W. D. Willis // Brain Res. Brain Res. Rev. – 2003. – Vol. 42, № 1. – P. 85–95.
17. Voogd J. The anatomy of the cerebellum / J. Voogd, M. Glickstein // Trends Neurosci. – 1998. – Vol. 21, № 9. – P. 370–375.

References

1. Behterev V. M. Provodjashhie puti spinnoho i golovnoho mozga: rukovodstvo k izucheniju vnutrennih svyazej mozga. V 2 ch. Ch. 2: Volokna mozzhechka, volokna mozgovyh polusharij i obshhij obzor provodjashhij sistem / V. M. Behterev. – 2-e izd., ispr. i dop. – Sankt-Peterburg, 1898. – 383 s.
2. Verbičkaja L. B. Citoarhitektonika kory i jader mozzhechka čeloveka v ontogeneze : avtofef. dis. na soiskanie naučnoj stepeni kand. med. nauk : spec. 14.00.02 «Anatomija čeloveka» / Verbičkaja Lidija Borisovna. - AMN SSSR. – Moskva, 1966. – 19 s.
3. Villiger Je. Golovnoj i spinnoj mozg: posobie po izucheniju morfologii i hoda volokon / Je. Villiger; per. s 10-go nemecckogo izdanija M. M. Anikina i Je. V. Shmidta. – Moskva ; Leningrad : Gos. izd-vo, 1930. – 375 s.
4. Gavasheli O. A. K metodike issledovanija jadra mozzhechka čeloveka / O. A. Gavasheli // Voprosy morfologii nervnoj sistemy / pod red. V. N. Ternovskogo. – Moskva : Medgiz, 1960. – S. 224–230.
5. Grenaderov Ju. V. K metodike izuchenija vnutriorgannyh sosudov mozga / Ju. V. Grenaderov // Voprosy morfologii nervnoj sistemy / pod red. dejstv. člhena AMN SSSR V. N. Ternovskogo. – Moskva : Medgiz, 1960. – S. 219–223.
6. Kozlova G. P. Individual'naja anatomicheskaja izmenčivost' jader mozzhechka / G. P. Kozlova // Arhiv anatomii, gistologii i jembriologii. – 1980. – T. 79, vyp. 79. – S. 16–21.
7. Komaromi L. Vskrytie golovnoho mozga : putevoditel' po topograficheskoj anatomii i po tehnike provedenija vskrytija / L. Komaromi. – Budašesht : AN Vengrii, 1961. – 123 s.
8. Kononova E. P. Mozzhechok / E. P. Kononova // Mnogotomnoe rukovodstvo po nevrologii / red. I. N. Filimonov. – Moskva : MEDGIZ, 1959. – T. 1 : Anatomija i gistologija nervnoj sistemy. – S. 389–143.
9. Merkulov G. A. Kurs patologogistologičeskoj tehniki / G. A. Merkulov. – 4-e izd. – Leningrad : Medgiz, 1961. – 343 s.
10. Pat. 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. – u021007778 ; заявл. 21.06.2010 ; опубл. 10.12.2010, Бюл. № 23.

11. Solov'ev S. V. Metodika issledovanija serogo veshhestva mozzhechka cheloveka / S. V. Solov'ev, B. I. Hubutija, S. P. Gerasin // Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik im. I. P. Pavlova. – 2000. – № 1/2. – S. 185–186.
12. Shijan D. N. Gistologicheskij metod okraski jader mozzhechka / D. N. Shijan // Tavricheskij mediko-biologicheskij vestnik. – 2013. – T. 16, № 1, ch. 1. – S. 251–253.
13. Akakin A. 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. – Vol. 74, № 4. – P. 401–425.
14. Green M. J. Developmental origins of diversity in cerebellar output nuclei [Electronic resource] / M. J. Green, R. J. Wingate // Neural Dev. – 2014. – Vol. 9. – DOI: 10.1186/1749-8104-9-1.
15. Grimaldi G. Topography of cerebellar deficits in humans / G. Grimaldi, M. Manto // Cerebellum. – 2012. – Vol. 11, № 2. – P. 336–351.
16. Saab C. Y. The cerebellum: organization, functions and its role in nociception / C. Y. Saab, W. D. Willis // Brain Res. Brain Res. Rev. – 2003. – Vol. 42, № 1. – P. 85–95.
17. Voogd J. The anatomy of the cerebellum / J. Voogd, M. Glickstein // Trends Neurosci. – 1998. – Vol. 21, № 9. – P. 370–375.

Реферат

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЯДЕР ТА ПРОВІДНИХ ШЛЯХІВ МОЗОЧКА

Шиян Д. М.

Ключові слова: мозочок, ядра мозочка, морфологія.

Вивченням морфологічних особливостей підкіркових вузлів головного мозку займалися багато дослідників. На сьогодні метод препарування мозку зазнав істотних змін, завдяки чому були описані і детально вивчені різні його відділи. У той же час автори зовсім мало використовували макромікроскопічний метод. Дослідження проведено на 340 препаратах мозочка людей, які померли у віці від 20 до 99 років. У роботі заявлений спосіб дослідження ядер і провідних шляхів мозочка, що включає попередню обробку, завдяки якій препарат зберігає свої топографоанатомічні особливості, здатний тривалий час зберігатися, еластичний, сіра речовина набуває контрастну насичену забарвлення і чітко диференціюється з білою речовиною, провідні шляхи легко препарувати макромікроскопічним методом під бінокулярною лупою по В. П. Воробйову. Може бути використаний при вивченні будови структур сірої і білої речовини ЦНС.

Summary

MORPHOLOGICAL PECULIARITIES IN STUDYING CEREBELLAR NUCLEI AND CONDUCTING TRACTS OF CEREBELLUM

Shyian D. N.

Key words: cerebellum, cerebellar nuclei, morphology.

Many researchers focused on the study of the morphological features of subcortical nuclei of the brain. Today, the brain dissection method has undergone significant changes that have contributed much in the detailed description and study of its various parts. At the same time, the authors did not sufficiently use the macro-microscopic techniques. The study was performed on 340 specimens of the cerebellum of human individuals who died at the age of 20 to 99 years. We used the method of studying nuclei and conducting cerebellar pathways that included special pre-treatment which enabled the preparation to retain its topographic and anatomical features and to be stored for a long period of time, gray matter of the brain got a contrasting rich color and clearly differed from the white matter. Conducting tracts could be easily dissected by macro- and microscopic methods under binocular magnifying glass according to V. P. Vorobiev. It can be used to study structures of gray and white matter of the CNS.