

УДК 611.813.018.013:618.29

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВЕНТРИКУЛЯРНОЙ ГЕРМИНАТИВНОЙ ЗОНЫ И НЕОКОРТЕКСА БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА И НОВОРОЖДЕННЫХ С 22-Й ПО 40-Ю НЕДЕЛИ ПРЕНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

© 2014 г. Е. В. Проценко, М. Е. Васильева, Л. П. Перетятко, А. И. Мальшкина

*Лаборатория патоморфологии и электронной микроскопии ФГБУ “Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова” Министерства здравоохранения РФ*

*153045, г. Иваново, Россия*

*E-mail: Morozova\_M\_E@rambler.ru*

*Поступила в редакцию 06.11.13 г.*

*Окончательный вариант получен 28.04.14 г.*

Настоящая работа посвящена изучению морфологии вентрикулярной герминативной зоны и неокортекса больших полушарий головного мозга в проекции поля № 4 моторной зоны у плодов человека в динамике с 22-й по 40-ю недели внутриутробного развития. Морфологическое исследование позволило уточнить следующие закономерности пренатального онтогенеза ЦНС человека. С 22-й по 27-ю недели происходит интенсивное формирование основных борозд первого порядка, разграничивающих мозг на доли. К 28–32 неделям завершается формирование всех борозд I-го порядка, а с 33-й по 37-ю — появляются добавочные борозды, являющиеся индивидуальной особенностью организма. Спурт гирификации коры головного мозга (22–27 недели) практически совпадает с завершением дифференцировки нейронов и формирования неокортекса моторной зоны. Структура последнего характеризуется четкой стратификацией цитоархитектонических слоев и модульной организацией нейронов с их вертикальной ориентацией в составе клеточных колонок (25–27 недели). В последующие недели антенатального развития вплоть до рождения человека существенных изменений в рельефе и структуре неокортекса не происходит. Структурная перестройка вентрикулярной герминативной зоны с 22-й по 40-ю недели пренатального онтогенеза осуществляется за счет ее постепенной редукции с завершением преобразований в сроки 37–40 недель. Критериями физиологической редукции указанной области являются зональное расположение глиобластов и прогрессивное уменьшение ее толщины в 33–37 недель внутриутробного развития.

*Ключевые слова:* вентрикулярная герминативная зона, неокортекс, пренатальный онтогенез, плоды человека.

DOI: 10.7868/S0475145014050073

В соответствии с предложениями ВОЗ новорожденные с экстремально низкой (от 500 до 999 г) и очень низкой (от 1000 до 1499 г) массой тела относятся к категории детей, нуждающихся в сбалансированных реанимационных мероприятиях. Однако до сих пор недостаточно объективных клинических и морфологических критериев, позволяющих наиболее точно в соответствии с гестационной зрелостью и уровнем здоровья определить объем лечебно-профилактических мероприятий по выхаживанию глубоко недоношенных новорожденных.

Поскольку рост и развитие плода, кроме генетических и средовых факторов, зависят от эфферентной импульсации центральной нервной системы (ЦНС), многие звенья патогенеза перина-

тальной патологии связаны с дизонтогенезом головного мозга.

Морфогенез борозд и извилин неокортекса — один из важных, но недостаточно изученных аспектов нейроморфологии. Появление зачатков борозд в фетальном периоде человека практически не описано. В ряде трудов отечественных (Савельев, 2005; Годовалова и др., 2008б) и зарубежных авторов (Ruiz et al., 2006; Sawada et al., 2012) содержатся противоречивые сведения о гирификации неокортекса в онтогенезе приматов и человека. В экспериментальных работах (Goldman-Rakic, 1980) описаны изменения гирификации поверхности мозга и реорганизация зрительной коры в результате повреждения. Достаточно сведений имеется о формировании корковой пластинки крыс и приматов. Подробно изучены био-

логические аспекты формирования, миграции и дифференцировки нейро- и глиобластов, формирующих субстрат перивентрикулярной герминативной зоны у млекопитающих (Bayer, Altman, 1991; Takahashi et al., 1995; Letinic et al., 2002). Однако практически не описан морфологический субстрат гестационных изменений головного мозга человека в норме и при нейропатологии перинатального периода. Изучение морфологических закономерностей становления перивентрикулярной зоны и коры больших полушарий в пренатальном онтогенезе является необходимым условием для понимания сущности структурных перестроек головного мозга при перинатальном поражении ЦНС у новорожденных.

Целью настоящего исследования явилось изучение морфологии вентрикулярной герминативной зоны и неокортекса больших полушарий головного мозга у плодов человека в динамике с 22-й по 40-ю недели пренатального онтогенеза.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучено 40 объектов головного мозга от плодов и новорожденных 22–40 недель гестации, погибших ante-, intra- и постнатально от асфиксии, обусловленной острой либо декомпенсированной хронической плацентарной недостаточностью. Критериями отбора объектов в группу исследования служили следующие условия: отсутствие врожденных аномалий головного мозга и объективных признаков внутриутробной инфекции, согласно отрицательным результатам бактериологического и бактериоскопического исследования аутопсийного материала; ширина просвета различных отделов боковых желудочков не более 0.5 см.

Для сохранения истинных размеров боковых желудочков и профилактики деформации мозговой паренхимы производили наливку вентрикулярной системы инъекционной смесью, согласно запатентованной методике (Проценко и др., 2008). Визуально и с помощью цифровой фотографии оценивали рельеф медиальной, дорсо-латеральной и базальной поверхностей полушарий большого мозга. В целях качественной фиксации объектов исследования большие полушария головного мозга помещали в 10% раствор нейтрального формалина с добавлением сулемы (на 100 мл 10% нейтрального формалина — 10 мг дихлорида ртути) на 14 дней.

Иссечение материала осуществляли единым блоком. Вентрикулярную герминативную зону с подлежащим белым веществом и неокортексом вырезали в верхнем отделе прецентральной извилины — в проекции поля № 4 моторной зоны. Выбор обусловлен функциональной значимостью двигательного анализатора, внутриутробно контролирующего движения плода и, таким образом,

способствующего развитию других отделов головного мозга в пренатальном онтогенезе.

Парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также тионином по методу Ниссля. Гистометрию неокортекса и перивентрикулярной зоны осуществляли с использованием системы анализа изображений “ВидеоТест-МастеМорфология-4” в целях динамического наблюдения за перечисленными отделами головного мозга в пренатальном онтогенезе.

Ультратонкие срезы контрастировали уранил-ацетатом с азотнокислым свинцом и лимоннокислым натрием. Срезы просматривали в электронном микроскопе ЭВМ-100 АК.

В соответствии с целью исследования материал в зависимости от гестационного возраста плодов был разбит на подгруппы: 22–27, 28–32, 33–37 и 38–40 недель.

Средние значения показателей толщины герминативной зоны и неокортекса вычисляли с помощью программы “Statistica 6.0”.

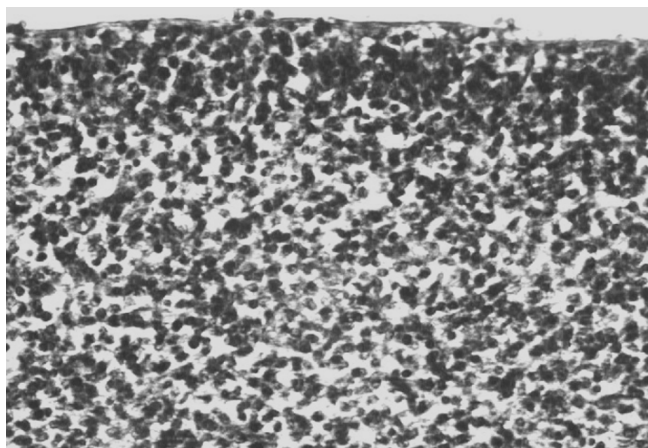
#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поверхность полушарий большого мозга с 22-й по 40-ю недели внутриутробного развития изменяется по мере формирования рельефа коры. В 22 недели определяются следующие борозды: *мозолистого тела, теменно-затылочная, шпорная, поясная* — на медиальных поверхностях, *латеральная, височная нижняя, центральная* — на конвексимальных, *обонятельная, возвратная и неглубокие зрительные бороздки (по 2 с каждой стороны)* — на базальной поверхностях обоих больших полушарий головного мозга.

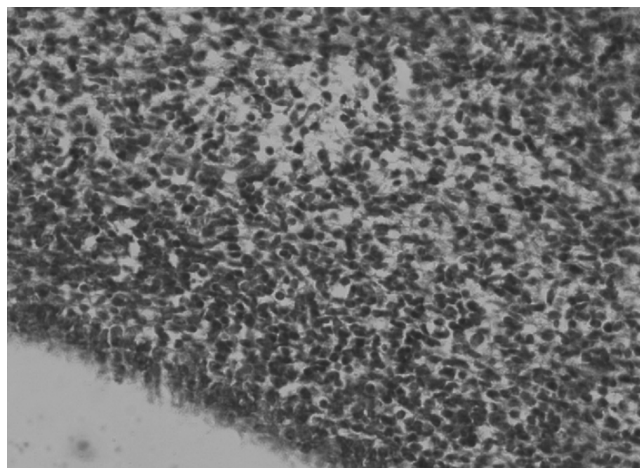
По мере внутриутробного развития плода рельеф коры дополняется новыми бороздами на конвексимальной поверхности полушарий: лобными верхней и нижней (23 неделя), височной верхней и постцентральной (24 неделя), прецентральной (25-я неделя). В последующие сроки гестации (28–32) борозды углубляются, а извилины становятся более рельефными. С 33-й по 37-ю недели появляются добавочные борозды, являющиеся индивидуальной особенностью каждого организма, что согласуется с результатами ранее проведенных собственных исследований (Проценко и др., 2009) и работами других авторов (Годвалова и др., 2008а, б).

Согласно нашим данным, интенсивное формирование практически всех основных борозд первого порядка, разграничивающих мозг на доли, происходит с 22-й по 25-ю недели гестации, в связи с чем указанный период пренатального онтогенеза можно считать спуртовым в отношении формирования рельефа коры головного мозга у плодов человека.

Вентрикулярная система головного мозга, объединяющая полости боковых, III и IV желудочков, с 22-й по 40-ю недели внутриутробного



**Рис. 1.** Герминативный матрикс плодов и новорожденных 22–40 недель гестации: (окраска гематоксилином и эозином) – в 22–27 недель. Об. 20, ок. 10.



**Рис. 2.** Герминативный матрикс плодов и новорожденных 22–40 недель гестации: (окраска гематоксилином и эозином) – в 28–32 недели. Об. 20, ок. 10.

развития щелевидной формы с шириной просвета от 0.1 до 0.5 см. Изнутри выстлана гладкой полупрозрачной эпендимой.

По литературным данным (Викторов, 2001), в эмбриональном мозге стенки желудочков состоят из вентрикулярной герминативной зоны (ВГЗ), содержащей пролиферирующие нейроэпителиальные клетки, и субвентрикулярной зоны – области первичной миграции нейро- и глиобластов, для суммарного обозначения которых используется термин “перивентрикулярная зона”. В постмитотическом периоде часть образовавшихся клеточных элементов остается в ВГЗ для дальнейшей дифференцировки; другая часть клеток, начиная с 8-й недели гестации, центробежно мигрирует в кортикальном направлении, постепенно перемещаясь к местам окончательной локализации в субвентрикулярной зоне и неокортексе (Алиханов, 2004; Gonzalez-Perez, 2012).

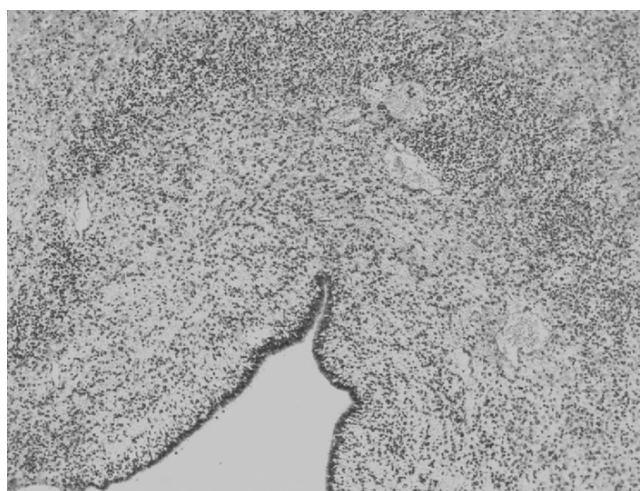
В сроки гестации 22–27 недель основная часть нейробластов уже участвует в формировании коры, в соответствии с чем ВГЗ “заселяют” в основном глиобласты. Последние, согласно проведенному исследованию, представляют собой клетки с гипер- и эухромными ядрами в равном количественном соотношении, формирующие область с высокой плотностью распределения клеточных элементов (рис. 1). Толщина вентрикулярной герминативной зоны составляет  $495.18 \pm 17.08$  мкм.

В период с 28-й по 32-ю недели внутриутробного развития в герминативном матриксе доминируют клетки с гиперхромными ядрами (рис. 2), среди которых равномерно распределены сосуды. Толщина ВГЗ уменьшается в 1.5 раза и составляет при этом  $326.72 \pm 14.07$  мкм.

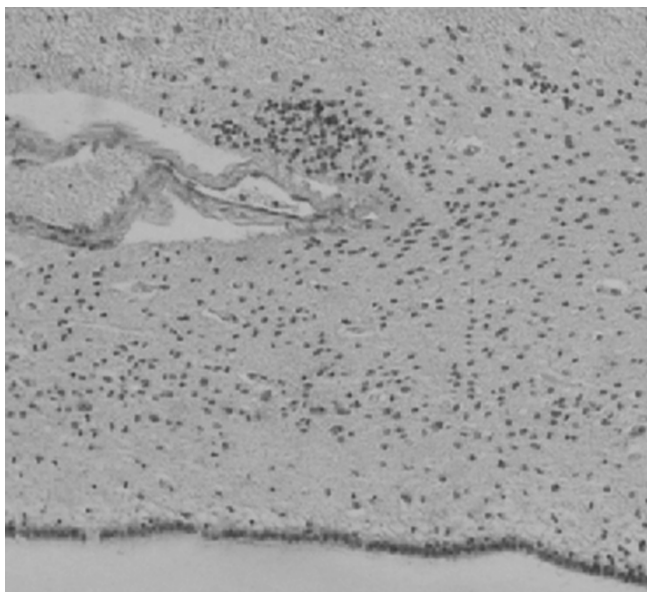
Вентрикулярная герминативная область в 33–37 недель гестации характеризуется зональным расположением глиобластов. Клетки с гиперх-

ромными ядрами формируют прерывистый слой либо очаговые периваскулярные скопления (рис. 3). Сосуды локализуются преимущественно в дистальных отделах герминативной зоны на границе с белым веществом. Выявленная особенность кровоснабжения ВГЗ обусловлена, с одной стороны, запустеванием и облитерацией просвета либо спазмированием части субэпендимально расположенных сосудов, с другой – дифференцировкой и новообразованием сосудистых коллекторов. Толщина ВГЗ уменьшается по сравнению с одноименным показателем предшествующего этапа развития в 4.7 раза и составляет  $104.05 \pm 12.44$  мкм.

В 38–40 недель гестации в указанной области визуализируются лишь единичные мелкоочаго-



**Рис. 3.** Герминативный матрикс плодов и новорожденных 22–40 недель гестации: (окраска гематоксилином и эозином) – в 33–37 недель. Об. 10, ок. 10.



**Рис. 4.** Герминативный матрикс плодов и новорожденных 22–40 недель гестации: (окраска гематоксилином и эозином) – в 38–40 недель. Об. 40, ок. 10.

вые скопления глиобластов (рис. 4), а кровоснабжение осуществляется за счет капилляроподобных сосудов.

Согласно результатам проведенного исследования, структурная перестройка вентрикулярной герминативной зоны у плодов человека с 22-й по 40-ю недели пренатального онтогенеза происходит за счет ее постепенной редукции, или физиологической регрессии (ФР), с завершением преобразований в 38–40 недель.

Выявленные морфологические признаки – зональное расположение глиобластов и многократное, в 4.7 раз, уменьшение толщины ВГЗ в 33–37 недель внутриутробного развития – следует рассматривать в качестве критериев физиологической редукции вентрикулярной герминативной зоны.

Изучение структурных особенностей неокортекса позволило выявить его послонную организацию. В гестационные сроки 22–27 недель морфологически дифференцируются I, II, III и комплекс IV–VI слоев. Нейроны, независимо от принадлежности к citoархитектоническим слоям, лишены хроматофильного вещества Ниссля, в связи с чем гистологически различимы только ядра клеток. Молекулярный, или плексиморфный, слой (I) делится на подслои: наружный, объединяющий большое количество клеток Кахаля-Ретциуса, и внутренний, редкоклеточный, нейроны которого формируют мелкие группы из 3–4 клеток. Нейроны нижележащих citoархитектонических слоев упорядочены в вертикальные колонки из 13–16 клеток в наружном зернистом (II) и 6–9 клеток в наружном пирамидном (III) слоях, что визуально создает впечатление вертикальной ис-

черченности коры. Соседние колонки объединяются двумя–тремя параллельными цепочками в модули, которые считаются структурно-функциональными единицами неокортекса. В III citoархитектоническом слое коры моторной зоны (поле № 4) с 25-й недели гестации появляются гигантские пирамидные клетки Беца, формирующие небольшие группы из 3–5 клеток. Электронномикроскопическое исследование позволило выявить в ядрах нейронов из различных citoархитектонических слоев эухроматин и ядрышки, в цитоплазме – митохондрии и элементы шероховатого эндоплазматического ретикулума, а вокруг нейронов – многочисленные профили дендритных отростков. Совокупность перечисленных признаков отражает процесс созревания коры моторной зоны с 22-й по 27-ю недели внутриутробного развития в обоих полушариях головного мозга. Толщина корковой пластинки в зоне двигательного анализатора в среднем составляет  $1109.4 \pm 11.93$  мкм.

В последующие недели гестации (28–32, 33–37 и 38–40) неокортекс сохраняет стратификацию citoархитектонических слоев и модульную организацию с вертикальной ориентацией нейронов в составе клеточных колонок. В 33–37 недель выявлено достоверное ( $p < 0.05$ ), в 1.5 раза по сравнению с 22–27 недель пренатального онтогенеза, увеличение толщины корковой пластинки до  $1164.9 \pm 12.87$  мкм, обусловленное редукцией герминативной зоны и миграцией нейробластов в кортикальном направлении.

Данное исследование показало, что спурт гирификации неокортекса в пренатальном онтогенезе (22–25 недели) практически совпадает с завершением дифференцировки нейронов и структурного формирования неокортекса моторной зоны (22–27 недели). В отечественных работах (Савельев, 2005; Перетятко и др., 2005; Проценко и др., 2009) отражено, что развитие коры полушарий переднего мозга приобретает строение, сходное с мозгом взрослого человека, именно к 25-й неделе пренатального онтогенеза. Следовательно, период внутриутробного развития с 22-й по 25-ю недели является критическим в плане формирования коры больших полушарий головного мозга развивающегося плода.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволили установить, что морфологические изменения перивентрикулярной зоны у плодов, развивающихся при неосложненном течении беременности, с 22-й по 40-ю недели гестации связаны с физиологической редукцией ВГЗ. Убедительными морфологическими доказательствами последней являются зональное расположение глиобластов и прогрессивное уменьшение толщины вентрикулярной

герминативной зоны, начиная с 33-й недели, а также остатки ВГЗ в виде мелких периваскулярных скоплений глиобластов в 38–40 недель внутриутробного развития.

Формирование рельефа поверхности больших полушарий головного мозга и процесс созревания неокортекса практически совпадают по срокам внутриутробного развития (22–27 недели). В указанный период пренатального онтогенеза в строго определенной, генетически детерминированной, последовательности появляются основные борозды первого порядка, разделяющие большие полушария на парные доли (лобные, теменные, височные, затылочные), и формируется цитоархитектоника коры.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алгоритм исследования головного мозга плодов и новорожденных 20–40 недель гестации с патологией центральной нервной системы: усовершенствованная медицинская технология / Под ред. Проценко Е.В., Губанова А.Н., Перетятко Л.П. и др. Иваново: ОАО Издательство “Иваново”, 2008. 21 с.
- Алиханов А.А. Нейрорадиологическая модель различных вариантов нарушения нейронной миграции // Журнал неврологии и психиатрии. 2004. № 10. С. 81–85.
- Викторов И.В. Стволовые клетки мозга млекопитающих: биология стволовых клеток *in vivo* и *in vitro* // Известия АН, серия биологическая. 2001. № 6. С. 646–655.
- Годовалова О.С., Савельев С.В., Барабанов В.М. Сравнительная характеристика нейрональной дифференцировки борозд затылочной области в плодном онтогенезе человека // Морфология. 2008а. Т. 133. № 2. С. 33–34.
- Годовалова О.С., Савельев С.В., Бесова Н.В. Определение возраста плодов человека по анатомическим характеристикам головного мозга // Российский вестник акушера-гинеколога. 2008б. Т. 4. № 4. С. 52–58.
- Перетятко Л.П., Кулида Л.В., Проценко Е.В. Морфология плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела. Иваново: ОАО Издательство “Иваново”, 2005. 384 с.
- Проценко Е.В., Губанова А.Н., Перетятко Л.П. Методические подходы к патоморфологическому исследованию головного мозга плодов и новорожденных с гидроцефалией // Архив патологии. 2007. Т. 69. № 6. С. 42–44.
- Проценко Е.В., Губанова А.Н., Перетятко Л.П. Морфология неокортекса плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела при дилатации боковых желудочков головного мозга // Архив патологии. 2009. Т. 71. № 3. С. 12–14.
- Савельев С.В. Происхождение мозга. М.: ВЕДИ, 2005. 368 с.
- Gonzalez-Perez O. Neural stem cells in the adult human brain // Biol. Biomed. Rep. 2012. V. 2. № 1. P. 59–69.
- Bayer S.A., Altman J. Development of the endopiriform nucleus and the claustrum in the rat brain // Neuroscience. 1991. V. 45. № 2. P. 391–412.
- Goldman-Rakic P.S. Morphological consequences of prenatal injury to the primate brain // Prog. Brain Res. 1980. V. 53. P. 1–19.
- Letinic K., Zoncu R., Rakic P. Origin of GABAergic neurons in the human neocortex // Nature. 2002. V. 417. P. 645–649.
- Ruiz A., Sembely-Taveau C., Paillet C., Sirinelli D. Reperes exographiques de gyration cerebrale foetale normal // J. Radiol. 2006. V. 87. P. 49–55.
- Sawada K., Fukunishi K., Kashima M., Saito S., Sakata-Haga H., Aoki I., Fukui Y. Fetal gyrification in cynomolgus monkeys: a concept of developmental stages of gyrification // Anat. Rec. 2012. V. 295. № 7. P. 1065–1074.
- Takahashi T., Nowakowski R.S., Caviness V.S., Jr. Early ontogeny of the secondary proliferative population of the embryonic murine cerebral wall // J. Neurosci. 1995. V. 15. P. 6058–6068.

## Morphological Changes in Ventricular Germinal Zone and Neocortex of the Cerebral Hemispheres in Human Fetuses and Newborns on Weeks 22–40 of Prenatal Development

E. V. Protsenko, M. E. Vasil'eva, L. P. Peretyatko, and A. I. Malyshkina

Laboratory of Pathomorphology and Electron Microscopy, Gorodkov Research Institute of Maternity and Childhood, Ivanovo, 153045 Russia

e-mail: Morozova\_M\_E@rambler.ru

Received November 6, 2013; in final form, April 28, 2014

**Abstract**—In this study, we investigated the morphology of the ventricular germinal zone and neocortex of the cerebral hemispheres in the projection field no. 4 of the motor area in human fetuses in dynamics from week 22 to 40 of fetal development. Morphological study allowed us to clarify the following patterns of prenatal ontogeny of the human CNS. On weeks 22–27, an intensive formation of the main sulci of the first order, differentiating the brain into lobes, is observed. By weeks 28–32, the formation of all sulci of the first order is completed; and on weeks 33–37, additional sulci characteristic of an individual are formed. The spurt of gyrification of the cortex (weeks 22–27) practically coincides with the completion of neuronal differenti-

ation and formation of the motor neocortex. The structure of the latter is characterized by a clear stratification of cytoarchitectonic layers and modular organization of neurons with their vertical orientation in cell columns (weeks 25–27). In subsequent weeks of prenatal development until birth, no significant changes in the topography and structure of the neocortex are observed. Structural rearrangement of the ventricular germinal zone on weeks 22–40 of prenatal development consists in its gradual reduction and is completed on weeks 37–40. The criteria of physiological reduction of this area are the zonal location of glioblasts and a progressive decrease in its thickness on weeks 33–37 of prenatal development.

*Keywords:* ventricular germinal zone, neocortex, prenatal development, human fetuses