

ДИФЕРЕНЦІЙНІ МОЖЛИВОСТІ КЛАСИЧНИХ ГІСТОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЛЯ ВСТАНОВЛЕННЯ ГЕНЕЗУ КРОВОВИЛИВУ В РЕЧОВИНУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Гараздюк М.С.

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

Резюме. Верифікація причини смерті (ПС) від ішемічного інфаркту головного мозку (ІІМ), крововиливів травматичного (КТГ) та нетравматичного (КНГ) генезів дозволяє виключити насильницьке походження смерті. Дуже часто при проведенні розтину експерту важко лишень макроскопічно діагностувати генез крововиливу, тому слід додатково відібрати матеріал для судово-гістологічного дослідження.

Мета роботи. Розробка судово-медичних критеріїв диференціації ішемічного інфаркту головного мозку, крововиливів травматичного та нетравматичного генезів мозку методом світлової мікроскопії гістологічних зрізів речовини головного мозку людини.

Матеріали та методи. Для дослідження використовувалися нативні зрізи та зафарбовані гістологічні препарати мозку від 110 трупів у випадку: смерті від ІІМ – 30 гістологічних зразків (1 група), з яких були виготовлені по 30 препаратів, зафарбованих за методами Ніссля та Шпіль-Майєра; КНГ – 30 гістологічних зразків (2 група) – по 30 препаратів, зафарбованих аналогічно до попередньої групи; КТГ – 30 гістологічних зразків (3 група) – по 30 препаратів, зафарбованих аналогічно до попередньої групи. Для контролю були обрані препарати мозку у випадку смерті від ішемічної хвороби серця – 20 зразків (4 група) – по 20 препаратів, зафарбованих за методами Ніссля та Шпіль-Майєра.

Результати. Аналіз отриманих даних гістологічного дослідження морфологічних змін тканинних елементів речовини головного мозку людини з різним генезом утворення крововиливів не виявив стабільних взаємозв'язків між змінами в структурі нервової тканини та причиною утворення крововиливу.

Висновок. Враховуючи неспецифічність дегенеративних змін структурних елементів речовини головного мозку залежно від генезу крововиливів, можна зробити висновок, що морфологічні методи дослідження гістологічних препаратів мозку не дають точної й об'єктивної інформації щодо генезу крововиливів.

Ключові слова: ішемічний інфаркт головного мозку, геморагічний інфаркт головного мозку, травматичний крововилив, судова медицина.

Вступ. Верифікація причини смерті (ПС) від ішемічного інфаркту головного мозку (ІІМ), крововиливів травматичного (КТГ) та нетравматичного (КНГ) генезів дозволяє виключити насильницьке походження смерті, а діагностика точного часу спричинення ушкодження допомагає судово-слідчим органам значно звузити коло підозрюваних у скоєнні злочину. [1,2] Дуже часто при проведенні розтину експерту важко лишень макроскопічно діагностувати генез крововиливу, тому слід додатково відібрати матеріал для судово-гістологічного дослідження. [3]

Гістологічний метод є класичною методикою дослідження в судово-медичній практиці. [4,5] Роль судово-медичної гістології в рутинній практиці полягає у встановленні причини смерті в окремих випадках і діагностиці давності перебігу процесів. Це досягається на основі мікроскопічного аналізу репрезентативних зразків клітин і тканин, узятих з внутрішніх органів трупа, а також висновків, отриманих під час проведення розтину. Передумовою цього є дотримання стандартів якості, встановлених для звичайних методів фарбування, а також імуногістохімічних методів. Інтерпретація гістологічних даних проводиться з урахуванням результатів макроскопічного розтину й інформації про попередній анамнез.

Мета роботи. Розробка судово-медичних критеріїв диференціації ішемічного інфаркту

головного мозку, крововиливів травматичного та нетравматичного генезів мозку методом світлової мікроскопії гістологічних зрізів речовини головного мозку людини.

Матеріали та методи. Для дослідження використовувалися нативні зрізи та зафарбовані гістологічні препарати мозку від 110 трупів у випадку: смерті від ШГМ – 30 гістологічних зразків (1 група), з яких були виготовлені по 30 препаратів, зафарбованих за методами Ніссля та Шпіль-Майєра; КНГ – 30 гістологічних зразків (2 група) – по 30 препаратів, зафарбованих аналогічно до попередньої групи; КТГ – 30 гістологічних зразків (3 група) – по 30 препаратів, зафарбованих аналогічно до попередньої групи. Для контролю були обрані препарати мозку у випадку смерті від ішемічної хвороби серця – 20 зразків (4 група) – по 20 препаратів, зафарбованих за методами Ніссля та Шпіль-Майєра.

Як методи дослідження використовувалися світлова мікроскопія гістологічних препаратів мозку при збільшенні в 400 разів для виявлення наявних у клітинах морфологічних змін, зафарбованих за методом Ніссля (для встановлення виражених патологічних і структурно-функціональних змін, зокрема зміни специфічного для нейронів нуклеопротеїдного комплексу (тигроїду або субстанції Ніссля), що міститься в цитоплазмі та дендритах); світлова мікроскопія гістологічних препаратів мозку, зафарбованих за методом Шпіль-Майєра (для виявлення змін мієлінових оболонок нервових відростків).

Методика фарбування за Нісслем була запропонована для встановлення та вивчення хроматофільної речовини (у вигляді глибок чи зерен) і ядер нервових клітин. [6] Стан цих складових клітини дозволяє оцінювати характер змін і відхилень від нормальної еквівалентної картини. Одночасно метод Ніссля виявляє зміни з боку гліозної тканини. Для дослідження беруть гістологічні зрізи РГМЛ, не товщі за 0,3 см. Найкращою є фіксація в спирті (96°) тривалістю від 5 днів до 1,5 місяця. Чим довше зрізи витримуються в спирті, тим краще вони знежирюються й, як наслідок, можна досягти кращих результатів при фарбуванні. Надалі готувалися парафінові зрізи. Необхідні розчини: толуїдинова синь, тионін, крезилвіолет у водних розчинах (на дистильованій воді); перші два в розведенні 1:1000, останній – 0,5 %. Методика фарбування описана в роботі Д.Е. Коржевського, О.В. Гілярова. [6]

Результат фарбування: глибок тигроїду, ядерна оболонка й ядерця – інтенсивно сині чи фіолетові, цитоплазма гангліозних і гліальних клітин – блідо-синя, волокниста нервова речовина не зафарбована.

Фарбування мієлінових оболонок на заморожених зрізах за Шпіль-Маєром описане в роботі Д.Е. Коржевського, О.В. Гілярова. [6] При мікроскопічному дослідженні гістопрепарату, пофарбованого за Шпіль-Маєром, на світлому, злегка жовтуватому, тлі – мієлінові волокна темно-сіро-синюватого відтінку; ядра дренажної олігодендроглії – в білій речовині того ж відтінку.

Результати дослідження. Хроматофільна субстанція або тільця Ніссля (в літературі ще зустрічається назва “тигроїд”) – це великі базофільні гранули, що містяться в нейронах. За своєю природою ці гранули являють собою цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, що містять велику кількість рибосом і є місцем синтезу білка, разом з нейрофібрилами належать до спеціальних компонентів нервових клітин. [7] Внаслідок фарбування за Нісслем базофільні гранули рибонуклеїнової кислоти (РНК) забарвлюються в синій колір. Цей метод фарбування використовують для визначення локалізації перикаріону, оскільки хроматофільна субстанція міститься лише в перикаріоні та дендритах, відсутня в аксоні й аксонному горбику. При перебігу певних патологічних процесів ця субстанція може зникати – виникає так званий хроматоліз, що свідчить про виснаження нервової клітини.

При зіставленні результатів, отриманих внаслідок мікроскопії гістологічних препаратів, зафарбованих за методом Ніссля, було виявлене наступне:

- 1) ШГМ (1-14 діб) – роздрібнення субстанції Ніссля в нейронах поблизу ділянок некрозу; в ділянках некрозу – заокруглення нейронів і зникнення субстанції Ніссля (рис. 1);
- 2) КНГ (1-12 діб) – у поодиноких збережених нейронах у зоні некрозу роздрібнення субстанції Ніссля та/або її відсутність (рис. 2);
- 3) КТГ (1-10 діб) – тканина мозку напівзруйнована, наявні заокруглені нейрони з гомогенізацією субстанції Ніссля (рис. 3).

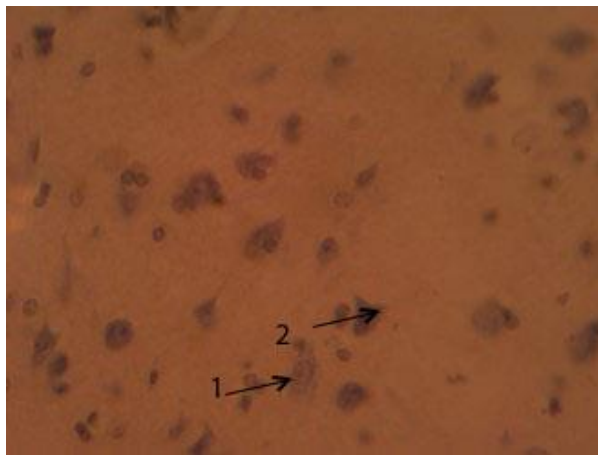


Рис. 1. Ішемічний інфаркт головного мозку (5 діб), збільшення мікроскопа $\times 400$: 1 – заокруглений нейрон; 2 – зникнення субстанції Ніссля у відростках.

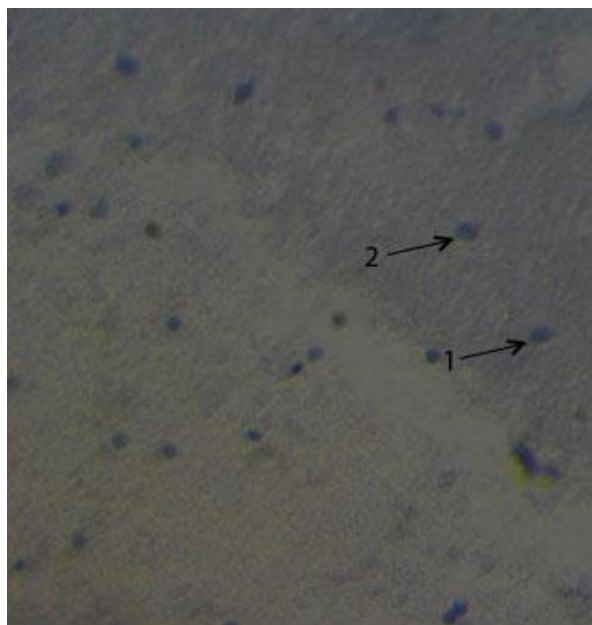


Рис. 2. Крововилив нетравматичного генезу (5 діб), збільшення мікроскопа $\times 400$: 1 – заокруглений нейрон; 2 – зникнення субстанції Ніссля у відростках.

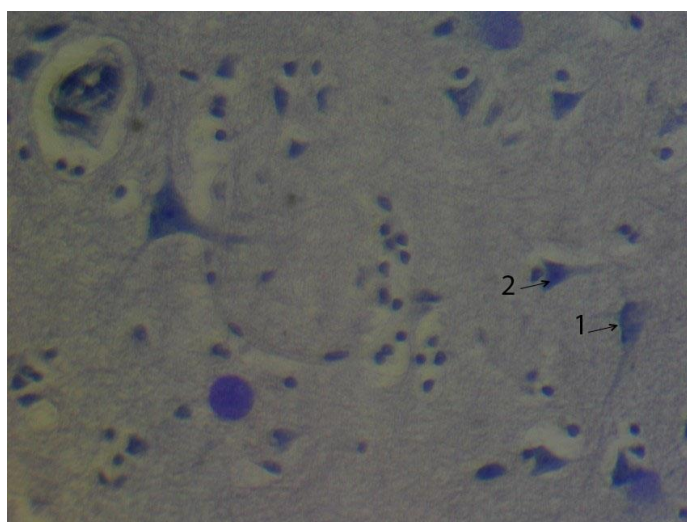


Рис. 3. Крововилив травматичного генезу (4 доби), збільшення мікроскопа $\times 400$: 1 – заокруглений нейрон; 2 – гомогенізація субстанції Ніссля.

Наступним кроком було проведення мікроскопії препаратів речовини головного мозку людини (РГМЛ), пофарбованих за методом Шпіль-Маєра, для візуалізації мієлінових нервових

волокон. Мієлінові нервові волокна забезпечують швидку й ефективну передачу електричних сигналів у нервовій системі. [8] Щоб діяти як електричний ізолятор, мієлінова оболонка являє собою багатоламелярну мембранну структуру, утворену шляхом спірального обгортання та подальшого ущільнення олігодендрогліної плазматичної мембрани навколо аксонів центральної нервової системи. Сучасні дані вказують на те, що мієлінова оболонка – це більше, ніж інертна ізоляційна мембранна структура. Олігодендроцити метаболічно активні та функціонально з'єднані з сусіднім аксоном через багаті цитоплазмовою мієлінові канали для переміщення макромолекул у міжвузловий периаksonальний простір під мієліновою оболонкою та з нього.

Мікроскопія гістологічних препаратів, зафарбованих за методом Шпіль-Маєра, виявила наступні морфологічні зміни в досліджених зразках з крововиливами:

- 1) ПГМ (2-14 діб) – у ділянці некрозу відсутність мієлінових волокон, за периферією некрозу – ознаки руйнування мієлінових волокон, у збережених ділянках – наявні мієлінові волокна (рис. 4);
- 2) КНГ (2-16 діб) – у ділянках некрозу та крововиливів повне руйнування мієлінових волокон, місцями – незначні залишки коротких уривків мієлінових волокон (рис. 5);
- 3) КТГ (2-15 діб) – у ділянці зруйнованої тканини мозку з крововиливами поодинокі фрагменти залишків мієлінових волокон (рис. 6).



Рис. 4. Ішемічний інфаркт головного мозку (5 діб), збільшення мікроскопа $\times 400$: 1 – у ділянці некрозу відсутність мієлінових волокон; 2 – за периферією некрозу ознаки руйнування мієлінових волокон; 3 – в збережених ділянках наявні мієлінові волокна.

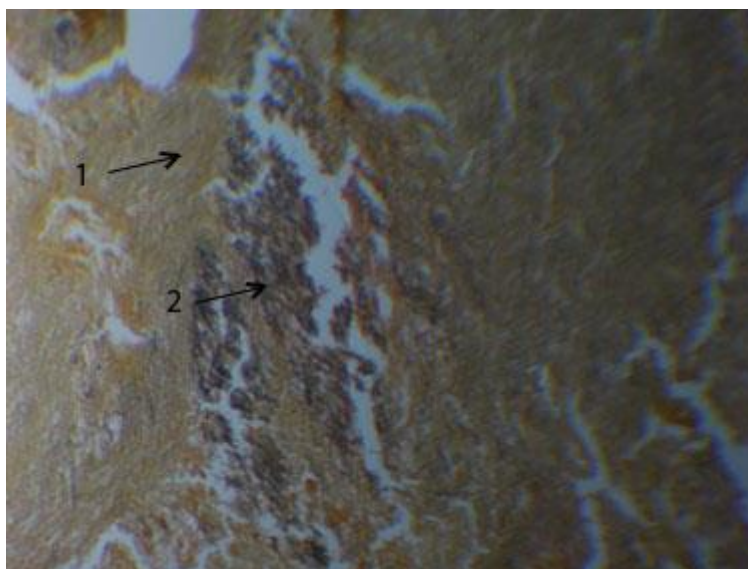


Рис. 5. Крововилив нетравматичного генезу (13 діб), збільшення мікроскопа $\times 400$: 1 – відсутність мієлінових волокон у ділянці крововиливу; 2 – залишки уривків мієлінових волокон.

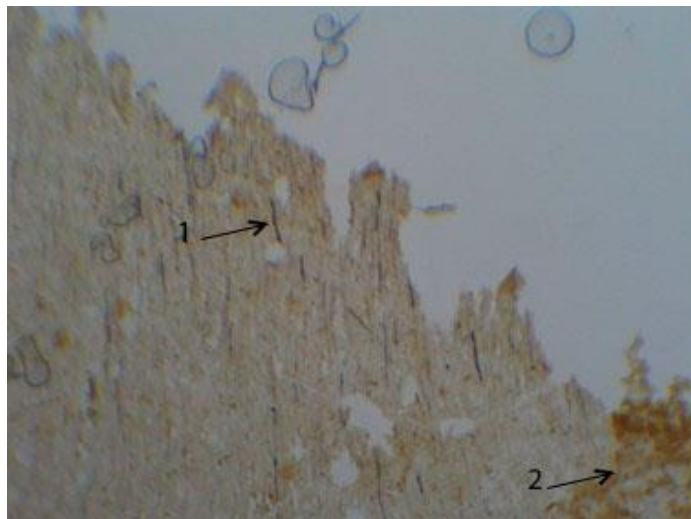


Рис. 6. Крововилив травматичного генезу (2-15 діб), збільшення мікроскопа $\times 400$: 1 – у ділянці зруйнованої тканини мозку з крововиливами поодинокі фрагменти залишків мієлінових волокон; 2 – крововилив.

Аналіз отриманих даних гістологічного дослідження морфологічних змін тканинних елементів речовини головного мозку людини з різним генезом утворення крововиливів не виявив стабільних взаємозв'язків між змінами в структурі нервової тканини та причиною формування крововиливу.

Отже, класична методика гістологічної диференційної діагностики генезу та часу утворення крововиливу в РГМЛ не є ефективною та не може бути використана для знаходження сталих і стабільних взаємозв'язків між причиною формування крововиливу та зміною в будові клітин і тканин померлих.

Водночас проведені дослідження вказують на наявність дегенеративних змін РГМЛ. Тому актуальним є продовження пошуку інших, об'єктивних методів діагностики зміни структури РГМЛ залежно від причини смерті.

Висновок. Враховуючи неспецифічність дегенеративних змін структурних елементів речовини головного мозку залежно від генезу крововиливів, можна зробити висновок, що морфологічні методи дослідження гістологічних препаратів мозку не дають точної й об'єктивної інформації щодо генезу крововиливів.

Література

1. Хохлов ВВ. Судебная медицина: Руководство. Смоленск; 2010. 992 с.
2. Пиголкина ЕЮ, Дорошева ЖВ, Сидорович ЮВ, Бычков АА. Современные аспекты судебно-медицинской диагностики черепно-мозговой травмы. Судебно-медицинская экспертиза. 2012;55(1):38-40.
3. Kronsbein K, Budczies J, Pfeiffer H, Karger B, Wittschieber D. On the quality of the external post-mortem examination in cases of fatal head trauma: A comparison of death certificate and forensic autopsy. *Anaesthesist*. 2020;69(1):37-48. doi: 10.1007/s00101-019-00704-6
4. Dettmeyer RB. The role of histopathology in forensic practice: an overview. *Forensic Sci Med Pathol*. 2014;10(3):401-12. doi: 10.1007/s12024-014-9536-9
5. Fronczek J, Hollingbury F, Biggs M, Ruttly G. The role of histology in forensic autopsies: is histological examination always necessary to determine a cause of death? *Forensic Sci Med Pathol*. 2014;10(1):39-43. doi: 10.1007/s12024-013-9496-5
6. Коржевский ДЭ, Гиляров АВ. Основы гистологической техники. Санкт-Петербург: СпецЛит; 2010. 95 с.
7. Луцик ОД, Чайковський ЮБ, редактори. Гістологія. Цитологія. Ембріологія: підручник. Вінниця: Нова Книга; 2018. 592 с.
8. Simons M, Nave K-A. Oligodendrocytes: Myelination and Axonal Support. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2015 Jun [cited 2021 Oct 26];8(1):a020479. Available from: <https://cshperspectives.cshlp.org/content/8/1/a020479> doi: 10.1101/cshperspect.a020479

References

1. Khokhlov VV. Sudebnaya meditsina: Rukovodstvo [Forensic Medicine: A Forensic Medicine Guide]. Smolensk; 2010. 992 p. (in Russian)
2. Pigolkina EYu, Dorosheva ZhV, Sidorovich V, Bychkov AA. Sovremennye aspekty sudebno-meditsinskoy diagnostiki cherepno-mozgovoy travmy [Modern aspects of forensic medical diagnostics of the craniocerebral injury]. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza. 2012;55(1):38-40. (in Russian)
3. Kronsbein K, Budczies J, Pfeiffer H, Karger B, Wittschieber D. On the quality of the external post-mortem examination in cases of fatal head trauma: A comparison of death certificate and forensic autopsy. Anaesthesist. 2020;69(1):37-48. doi: 10.1007/s00101-019-00704-6
4. Dettmeyer RB. The role of histopathology in forensic practice: an overview. Forensic Sci Med Pathol. 2014;10(3):401-12. doi: 10.1007/s12024-014-9536-9
5. Fronczek J, Hollingbury F, Biggs M, Ruttly G. The role of histology in forensic autopsies: is histological examination always necessary to determine a cause of death? Forensic Sci Med Pathol. 2014;10(1):39-43. doi: 10.1007/s12024-013-9496-5
6. Korzhevskiy DE, Gilyarov AV. Osnovy gistologicheskoy tekhniki [Basics of Histological Technique]. Sankt-Peterburg: SpetsLit. 2010. 95 p. (in Russian)
7. Lutsyk OD, Chaikovs'kyi YuB, redaktery. Histolohiia. Tsytolohiia. Embriolohiia: pidruchnyk [Histology. Cytology. Embryology: a textbook]. Vinnytsia: Nova Knyha; 2018. 592 p. (in Ukrainian)
8. Simons M, Nave K-A. Oligodendrocytes: Myelination and Axonal Support. Cold Spring Harb Perspect Biol [Internet]. 2015 Jun [cited 2021 Oct 26];8(1):a020479. Available from: <https://cshperspectives.cshlp.org/content/8/1/a020479> doi: 10.1101/cshperspect.a020479

DIFFERENTIAL POSSIBILITIES OF CLASSICAL HISTOLOGICAL RESEARCH METHODS FOR ESTABLISHING THE GENESIS OF HEMORRHAGES IN THE HUMAN BRAIN SUBSTANCE

Garazdiuk M.S.

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

Summary. Verification of the cause of death (CD) from ischemic cerebral infarction (ICI), hemorrhage of traumatic (GTG) and non-traumatic (GNG) genesis eliminates the violent origin of death. Very often it is difficult to diagnose the genesis of hemorrhage only macroscopically when performing an autopsy, so additional material should be selected for forensic histological examination.

Aim of the work. To develop forensic criteria for the differentiation of ICI, GTG and GNG of the brain by light microscopy of histological sections of the human brain (HB).

Material and methods. For the study were used native sections and stained histological specimens of HB from 110 corpses in the case of: death from ICI – 30 histological specimens (1 group), which were made of 30 specimens stained by the methods of Nissl and Spiel-Mayer; GNG – 30 histological samples (group 2) – 30 specimens, stained similarly to the previous group; GNG – 30 histological samples (group 3) – 30 specimens stained similarly to the previous group. Brain preparations in case of death from coronary heart disease were selected for control – 20 samples (4 groups) – 20 specimens stained by the methods of Nissl and Spiel-Mayer.

Results. Analysis of the obtained data of histological examination of morphological changes of tissue elements of the human brain with different genesis of hemorrhage did not reveal stable relationships between changes in the structure of nervous tissue and the cause of hemorrhage.

Conclusion. Given the nonspecificity of degenerative changes in the structural elements of the brain, depending on the genesis of hemorrhage, it can be concluded that morphological methods of histological preparations of the brain do not provide accurate and objective information about the genesis of hemorrhage.

Keywords: ischemic cerebral infarction, hemorrhagic cerebral infarction, traumatic hemorrhage, forensic medicine.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ КЛАССИЧЕСКИХ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ГЕНЕЗА КРОВОИЗЛИЯНИЯ В ВЕЩЕСТВО ГОЛОВНОГО МОЗГА

Гараздюк М.С.

Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина

Резюме. Верификация причины смерти (ПС) от ишемического инфаркта головного мозга (ИИГМ), кровоизлияний травматического (КТГ) и нетравматического (КНГ) генезов позволяет исключить насильственное происхождение смерти. Очень часто при проведении вскрытия эксперту трудно только макроскопически диагностировать генез кровоизлияния, поэтому следует дополнительно отобрать материал для судебно-гистологического исследования.

Цель работы. Разработка судебно-медицинских критериев дифференциации ишемического инфаркта головного мозга, кровоизлияний травматического и нетравматического генезов мозга методом световой микроскопии гистологических срезов вещества головного мозга человека.

Материалы и методы. Для исследования использовались нативные срезы и окрашенные гистологические препараты мозга от 110 трупов в случае: смерти от ИИГМ – 30 гистологических образцов (1 группа), из которых были изготовлены по 30 препаратов, окрашенных по методам Ниссля и Шпиль-Майера; КНГ – 30 гистологических образцов (2 группа) – по 30 препаратов, окрашенных аналогично предыдущей группе; КТГ – 30 гистологических образцов (3 группа) – по 30 препаратов, окрашенных аналогично предыдущей группе. Для контроля были выбраны препараты мозга в случае смерти от ишемической болезни сердца – 20 образцов (4 группа) – по 20 препаратов, окрашенных по методам Ниссля и Шпиль-Майера.

Результаты. Анализ полученных данных гистологического исследования морфологических изменений тканевых элементов вещества головного мозга человека с разным генезом образования кровоизлияний не выявил стабильных взаимосвязей между изменениями в структуре нервной ткани и причиной образования кровоизлияния.

Вывод. Учитывая неспецифичность дегенеративных изменений структурных элементов вещества головного мозга в зависимости от генеза кровоизлияний, можно заключить, что морфологические методы исследования гистологических препаратов мозга не дают точной и объективной информации о генезе кровоизлияний.

Ключевые слова: ишемический инфаркт головного мозга, геморрагический инфаркт головного мозга, травматическое кровоизлияние, судебная медицина.

Відомості про автора:

Гараздюк М.С. – кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри судової медицини та медичного правознавства Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, Україна, e-mail: m.garazdiuk@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-1536-4440

Informations about the author:

Garazdiuk M.S. – PhD, Associate Professor of Forensic Medicine and Medical Law Department, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine, e-mail: m.garazdiuk@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-1536-4440

Сведения об авторе:

Гараздюк М.С. – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры судебной медицины и медицинского правоведения Буковинского государственного медицинского университета, г. Черновцы, Украина, e-mail: m.garazdiuk@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-1536-4440