

<https://doi.org/10.19048/fm336>



НЕЙРО-ГЛИОСОСУДИСТЫЙ МОДУЛЬ МОЗОЛИСТОГО ТЕЛА В ДИАГНОСТИКЕ ДИФФУЗНОГО АКСОНАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Е.М. Колударова^{1*}, О.В. Зориков¹, Е.С. Тучик^{1, 2}

¹ ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ. Актуальность. В настоящее время отсутствует научно обоснованный диагностический комплекс диффузного аксонального повреждения мозга (ДАП), позволяющий установить его морфологический субстрат и давность, особенно в раннем посттравматическом периоде. **Цель исследования** — установление морфологических изменений в мозолистом теле в различные посттравматические периоды ДАП. Материалом послужили мозолистые тела трупов лиц, получивших черепно-мозговую травму с ДАП в течение 1 ч (I группа, n=25), в период от 1 до 12 ч (II группа, n=30) и от 12 до 48 ч (III группа, n=17) до наступления смерти. Группу контроля составили мозолистые тела (n=25) лиц, умерших от различных ненасильственных и насильственных (без травмы головы) причин. Морфологические признаки изменений в мозолистых телах изучались на светооптическом уровне с применением микроскопического метода с гистологической окраской гематоксилином и эозином, гистохимического метода с использованием специальных гистологических окрасок (по Ниссию, AgNOR) и иммуногистохимического метода исследования. Количественная характеристика морфологических признаков проводилась с применением морфометрии с помощью компьютерной программы анализа изображений. Интерпретация полученных результатов проводилась с помощью сравнительного анализа и синтеза, статистической обработки полученных данных. Основным диагностическим критерием ДАП являются кровоизлияния в веществе ствола мозолистого тела. Выявление установленного комплекса морфологических изменений нейро-глиососудистого модуля позволит определить давность ДАП. **Заключение.** ДАП как особый вид черепно-мозговой травмы проявляется патогномичным комплексом патоморфологических изменений в глубинных структурах головного мозга, включая мозолистое тело. Объективизация давности ДАП должна основываться на сравнительной оценке всех морфологических признаков установленного нейро-глиососудистого модуля, при этом отдельные его признаки не могут рассматриваться как диагностические.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, диффузное аксональное повреждение, ДАП, мозолистое тело, нейро-глиососудистый модуль, давность ДАП.

Для цитирования: Колударова Е.М., Зориков О.В., Тучик Е.С. Нейро-глиососудистый модуль мозолистого тела в диагностике диффузного аксонального повреждения. Судебная медицина. 2020;6(4):In Press. DOI: <https://doi.org/10.19048/fm336>.

Поступила 07.10.2020

Принята после доработки 07.12.2020

Опубликована 09.12.2020

NEURO-GLIOVASCULAR MODULE OF THE CORPUS CALLOSUM IN THE DIAGNOSIS OF DIFFUSE AXONAL BRAIN INJURY

Ekaterina M. Koludarova^{1*}, Oleg V. Zorikov¹, Evgeny S. Tuchik^{1, 2}

¹ Russian Centre of Forensic Medical Expertise, Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russian Federation

² The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT. Background: Currently, there is no scientifically based diagnostic complex for diffuse axonal brain injury (DAI) which allows to reveal its morphological substrate and determine the time elapsed after it, especially in the early post-traumatic period. **Aims:** identification of morphological changes in the corpus callosum in various post-traumatic periods after DAI.

*The material of the study is the corpus callosum of victims who died from traumatic brain injury with DAI within the first hour (group I, n=25), in the period from 1 to 12 hours (group II, n=30) and in the period from 12 to 48 hours (group III, n=17) before the death. The control group of the study comprises the corpus callosum (n=25) of those who died from various causes of non-violent and violent death (without any head trauma). The main diagnostic criterion for DAI is represented by hemorrhages in the substance of the corpus callosum truncus. The proposed complex of morphological changes in the neuro-gliovascular module will allow to determine the time elapsed after DAI. **Conclusions:** DAI as a special type of traumatic brain injury is manifested by a pathognomonic complex of pathomorphological changes in the deep structures of the brain, including the corpus callosum. Objectification of the time elapsed after DAI should be based on a comparative assessment of all morphological features of the identified neuro-gliovascular module, while its individual features can not be considered as diagnostic.*

Keywords: traumatic brain injury, diffuse axonal injury, DAI, corpus callosum, neuro-gliovascular module, time elapsed after DAI.

For citation: Koludarova EM, Zorikov OV, Tuchik ES. Neuro-gliovascular module of the corpus callosum in the diagnosis of diffuse axonal brain injury. *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2020;6(4):In Press. DOI: <https://doi.org/10.19048/fm336>.

Submitted 07.10.2020

Revised 07.12.2020

Published 09.12.2020

КЛЮЧЕВОЕ СООБЩЕНИЕ

Что уже известно по предмету исследования?

На сегодняшний день не представлен научно обоснованный диагностический комплекс морфологических критериев диагностики ДАП раннего посттравматического периода, не выявлена динамика структурно-функциональных изменений вещества головного мозга в различные сроки переживания травмы, оценка которой возможна на светооптическом уровне.

Что вносит ваше исследование?

В результате проведенного исследования установлено, что ДАП как особый вид черепно-мозговой травмы проявляется патогномичным комплексом патоморфологических изменений в глубинных структурах головного мозга, включая мозолистое тело, и объективизация его давности должна быть основана на сравнительной оценке всех установленных морфологических признаков, входящих в комплекс выделенного нейро-глиососудистого модуля, при этом отдельные его признаки не могут рассматриваться как диагностические.

ОБОСНОВАНИЕ

Посмертная диагностика диффузного аксонального повреждения головного мозга (ДАП) — непростая судебно-медицинская задача, особенно в случаях смертельного исхода в первые часы после черепно-мозговой травмы (ЧМТ). В настоящее время отсутствует научно обоснованный диагностический комплекс ДАП раннего посттравматического периода [1], который позволил бы установить морфологический субстрат и давность ДАП при использовании традиционных гистологических методик.

Известно, что ДАП характеризуется посттравматической комой, мелкоочаговыми кровоизлияниями в глубинных структурах головного мозга, в частности в мозолистом теле, и аксотомией [2, 3]. Однако зачастую в судебно-медицинской практике приходится прово-

дить исследование лиц, погибших от ЧМТ в условиях неочевидности, без оказания медицинской помощи. В ряде случаев при ДАП макроскопически видимые повреждения в области головы могут отсутствовать, а гистологически установленные изменения в веществе головного мозга даже с применением иммуногистохимического исследования без их комплексного анализа не вносят диагностической ясности. Так, по данным J. Geddes и соавт. [4], выявляемая при иммуногистохимическом исследовании аксотомия не является однозначным признаком травматического повреждения отростка нейрона. Вместе с тем в результате экспериментальных исследований установлено, что при этой форме ЧМТ запускается цепь разнонаправленных реактивных процессов в различных структурах головного мозга [5, 6]. Однако как в отечественной, так и в иностранной литературе не содержится указаний на исследование, посвященные комплексному сравнительному анализу изменений в головном мозге пострадавших от ДАП в различные посттравматические сроки, что создаёт определённые трудности в интерпретации характеристик обнаруживаемых морфологических изменений и экспертной оценке причин их возникновения. Кроме того, не представлен перечень необходимых доказательных гистологических методик, применение которых позволит объективизировать ДАП и установить давность ЧМТ в экспертной практике.

Цель исследования — установление патоморфологических изменений в мозолистом теле в различные посттравматические периоды ДАП, всесторонний анализ которых позволит установить его давность.

Анализ патоморфологических изменений в мозолистом теле в зависимости от длительности посттравматического периода диффузного аксонального повреждения головного мозга

Материалом послужили мозолистые тела трупов лиц, получивших ЧМТ с ДАП в возрасте от 14 до 82 лет:

19 мужчин и 6 женщин, погибших в течение первого часа после травмы (I группа), 21 мужчина и 9 женщин в посттравматический период от 1 до 12 ч (II группа), 13 мужчин и 4 женщины, смерть которых наступила после травмы в период от 12 до 48 ч (III группа). Группу контроля составили мозолистые тела 17 мужчин и 8 женщин, умерших в возрасте от 16 до 73 лет от различных ненасильственных и насильственных (без травмы головы) причин.

Для микроскопического исследования сагиттальные срезы ствола мозолистого тела окрашивали гематоксилином и эозином, по Ниссию, AgNOR по стандартным процедурам. Иммуногистохимическое исследование проводилось в соответствии с протоколом производителя в стандартизированных условиях с антителами к нейрофиламентам нейронов (NFP; Neurofilament, 2F11; Mouse Monoclonal Antibody, Cell Marque Corporation) в разведении 1:300, к GFAP астроцитов (Glial Fibrillary Acidic Protein, SP78; Rabbit Monoclonal Antibody, Cell Marque Corporation) в разведении 1:300; выполнялись положительный и отрицательный контроли. Для количественной оценки изучаемых структур применяли морфометрию.

При условии выявления в стволе мозолистого тела кровоизлияний с морфологическими характеристиками, установленными в проведённых нами исследованиях, реактивные морфологические изменения оценивали по следующим параметрам состояния гистоструктур мозолистого тела: в нейронах серого покрова (форма и размер тела и ядра, локализация ядрышка, наличие аргирофильных гранул и хроматолиза); в отростках нейронов (толщина, контур, целостность, состояние цитоскелета) и астроцитов (толщина, контур, целостность); в перифокальной зоне кровоизлияний оценивали сосудистое русло (кровенаполнение, состояние стенки сосуда, содержимое периваскулярного пространства), состав клеточной реакции (глиоциты, лейкоциты, макрофаги), наличие некроза вещества и ретракционных шаров.

Гистологические препараты исследовали в проходящем свете с помощью микроскопа Axio Imager.A2 (Zeiss, Германия). При помощи цифровой камеры AxioCam HRC с максимальным разрешением 3600×3030 пикселей и программного обеспечения ZEN lite 2012 (CarlZeiss) проводили морфометрию.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью табличного редактора Microsoft Excel (2013) и пакета прикладных программ Statistica 8.0 for Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено:

ДАП в течение первого часа после травмы: кровоизлияния в мозолистом теле макроскопически выявлены в 15 (58%) случаях, гистологически — в 23 (89%). Выявленные кровоизлияния (однонаправленные, мел-

коочаговые, вытянутой формы в количестве не менее 3 и длиной не более 4 мм) располагаются в веществе ствола и сером покрове мозолистого тела, а также вокруг вен его вентральной поверхности; кровоизлияния из контурирующихся эритроцитов, определённой линейной направленности, позволяющей предположить вектор смещения головного мозга. В зоне кровоизлияний тела нейронов серого покрова ближе к округлой форме, с максимальным и минимальным диаметром $21,2 \pm 2,1$ и $15,8 \pm 2,7$ мкм соответственно, ядрами округлой формы $9,75 \pm 1,6$ мкм в диаметре с эксцентрично расположенным ядрышком, отсутствием аргирофильных гранул, с размытым контуром ядерной мембраны, слабо выраженным перинуклеарным хроматолизом. В перифокальной зоне кровоизлияний — спазм и малокровие артерий и артериол, неравномерное кровенаполнение вен, полнокровие венул и капилляров; в просветах сосудов — контурирующиеся эритроциты; периваскулярное пространство свободно или с наличием эритроцитов; отсутствуют глиальная, лейкоцитарная реакция и некроз вещества. Отростки нейронов вокруг кровоизлияний неравномерной толщины ($3,11 \pm 0,9$ мкм), с неровными контурами, участками фрагментарного уплотнения нейрофиламентов с иммунопозитивной реакцией антителами к нейрофиламентам, наличием структур типа чёток, образованием утолщений и сохранной целостью светооптически визуализирующегося фрагмента отростка; ретракционные шары отсутствуют. Отростки астроцитов неравномерной толщины, с утолщениями, закручиванием и образованием структур типа петель, с иммунопозитивной реакцией с антителами к GFAP, некоторые представлены фрагментарно;

ДАП посттравматического периода от 1 ч до 12 ч: кровоизлияния в мозолистом теле с вышеописанными морфологическими характеристиками выявлены макроскопически в 27 (84%) случаях, гистологически — в 32 (100%). В зоне кровоизлияний в сером покрове нейроны с неправильными, ближе к треугольным, формами тел и ядер, максимальным и минимальным размером тел $14,5 \pm 5,1$ и $6,1 \pm 0,9$ мкм соответственно; максимальным размером ядер до $7,1 \pm 0,9$ мкм, смещением ядрышка на периферию ядра вплоть до ядерной мембраны или отсутствием ядрышка в отдельных нейронах; с наличием аргирофильных гранул в ядрах, перинуклеарного хроматолиза на расстоянии 2–3 мкм от оболочки ядра. В перифокальной зоне кровоизлияний — неравномерное кровенаполнение артерий и артериол с отделением плазмы от клеток крови, полнокровие вен, венул и капилляров, с перераспределением лейкоцитов и лейкостазами в некоторых венулах и капиллярах; группы микроглиоцитов при отсутствии лейкоцитов и некроза вещества. Отростки нейронов неравномерной толщины ($3,2 \pm 1,2$ мкм), с неровными контурами, участками фрагментарного уплотнения нейрофиламентов, утолщениями, структурами типа чёток, сохранной целостью

светооптически визуализируемого фрагмента отростка; ретракционные шары отсутствуют. Отростки астроцитов неравномерной толщины, с утолщениями, закручиванием и образованием структур типа петель, некоторые представлены фрагментарно;

ДАП посттравматического периода от 12 ч до 48 ч: кровоизлияния в мозолистом теле с вышеописанными морфологическими характеристиками выявлены микроскопически в 12 (71%) случаях, гистологически — в 15 (88%). В сером покрове тела и ядра нейронов неправильной и треугольной формы, размерами тел нейронов от $14\pm 3,0$ до $5,9\pm 0,5$ мкм (максимальный размер ядер $7,0\pm 1,9$ мкм), с гиперхромными ядрами, смещёнными на периферию клеток; резким смещением ядрышек на периферию ядер вплоть до ядерных мембран, отсутствием ядрышек в отдельных нейронах, наличием в ядрах аргирофильных гранул; нейроны с тотальным хроматолизом. В перифокальной зоне кровоизлияний — неравномерное кровенаполнение артерий, полнокровие артериол, венул, капилляров и вен, эритросты и лейкосты в венулах и капиллярах; клеточная реакция из микроглиоцитов и клеток макроглии; отсутствует некроз вещества. Отростки нейронов неравномерной толщины ($5,38\pm 2,7$ мкм) с неровными контурами, участками фрагментарного уплотнения нейрофиламентов, утолщениями, структурами типа чёток, сохранённой целостью светооптически визуализируемого фрагмента отростка; ретракционные шары отсутствуют. Отростки астроцитов неравномерной толщины, с утолщениями, закручиванием и образованием структур типа петель, некоторые представлены фрагментарно.

В группе контроля кровоизлияний в мозолистом теле не выявлено. Нейроны серого покрова с телами ближе к округлой форме (максимальный диаметр $17,5\pm 2,8$ мкм, минимальный — $10\pm 1,3$ мкм), их ядра крупные, сферической формы ($10,5\pm 1,9$ мкм диаметром), без аргирофильных гранул, с центрально расположенным ядрышком. Отростки нейронов неравномерной толщины ($2,7\pm 0,9$ мкм), с неровными контурами, участками фрагментарного уплотнения нейрофиламентов, расширений и утолщений отростков, наличием структур типа чёток, сохранённой целостью. Отростки астроцитов неравномерной толщины, с утолщениями, закручиванием и образованием структур типа петель, в некоторых участках фрагментированы. Артерии и артериолы неравномерного кровенаполнения, вены и сосуды микрогемодикуляции полнокровны. Некроз вещества и пролиферация каких-либо клеток отсутствовали.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведённого исследования и сравнительного анализа полученных микроскопических признаков установлено, что основным диагностическим критерием ДАП при ЧМТ является кровоизлияние в веществе ствола мозолистого тела. Установлены сле-

дующие морфологические критерии: в нейронах серого покрова — изменения формы, размеров тел и ядер, размытые контуры ядерной мембраны, эксцентричное расположение ядрышка, наличие аргирофильных гранул, перинуклеарный хроматолиз; в отростках нейронов — неровные контуры, участки фрагментарного уплотнения нейрофиламентов и утолщений отростков, отсутствие ретракционных шаров; в отростках астроцитов — участки утолщений, образование структур типа петель; наличие сосудистой и клеточной (глиальной с отсутствием лейкоцитарной) реакции является признаком формирующейся в ранний (до 48 ч) период ответной реакции на ЧМТ.

Изменения в мозолистом теле при ДАП, установленные во всех его структурах (сером покрове, содержащем нейроны, в отростках нейронов и клетках глии, в сосудистой сети), представляют комплексную реакцию отдельной морфофункциональной единицы, созданной в ответ на травматическое повреждение, которую следует обозначить как нейро-глиососудистый модуль. Несомненно, определение локализации кровоизлияний и анализ их морфологии позволит объективизировать генез ЧМТ, а выявление установленного комплекса морфологических изменений нейро-глиососудистого модуля — высказаться о давности ДАП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ДАП как особый вид ЧМТ является патогномичным комплексом патоморфологических изменений в глубинных структурах головного мозга, включая мозолистое тело, и объективизация его давности должна быть основана на сравнительной оценке всех установленных морфологических признаков, входящих в комплекс выделенного нейро-глиососудистого модуля, при этом отдельные его признаки не могут рассматриваться как диагностические.

ВКЛАД АВТОРОВ • AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Концепция и дизайн исследования, сбор, анализ и интерпретация данных, написание черновика рукописи: Колударова Е. М., Зориков О. В.

Статистический анализ: Колударова Е. М.

Научная редакция рукописи: Колударова Е. М., Тучик Е. С.

Рассмотрение и одобрение окончательного варианта рукописи: Колударова Е. М., Зориков О. В., Тучик Е. С.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Study concept and design, data collection, analysis and interpretation of data, draftig of the manuscript: Koludarova EM, Zorikov OV.

Statistical analysis: Koludarova EM.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: Koludarova EM, Tuchik ES.

Review and approve the final manuscript: Koludarova EM, Zorikov OV, Tuchik ES.

Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ • FUNDING

Исследование и публикация статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.
The study had no sponsorship.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ • CONFLICT OF INTEREST

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no apparent or potential conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колударова Е.М., Тучик Е.С. Аспекты посмертной диагностики диффузного аксонального повреждения мозга // Вестник судебной медицины. 2019. Т. 8, № 3. С. 44–49.
2. Ромодановский П.О. Комплексная судебно-медицинская диагностика и экспертная оценка повреждений головного мозга при травме головы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 1996. Режим доступа: <https://search.rsl.ru/ru/record/01000041957>. Дата обращения: 12.10.2020.
3. Su E., Bell M. Diffuse Axonal Injury. In: Laskowitz D., Grant G. *Translational Research in Traumatic Brain Injury*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor and Francis Group; 2016. 436 p. doi: 10.1201/b18959
4. Geddes J.F., Whitwell H.L., Graham D.I. Traumatic axonal injury: Practical issues for diagnosis in medicolegal cases. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2000. Vol. 26. P. 105–116. doi: 10.1046/j.1365-2990.2000.026002105.x
5. Barros C.S., Franco S.J., Muller U. Extracellular matrix: Functions in the nervous system. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2011. Vol. 3, N 1. P. a005108. doi: 10.1101/cshperspect.a005108
6. Maxwell W.L. Development of concepts in the pathology of traumatic axon and traumatic brain injury. In: Kobeissy F.H. *Brain Neurotrauma: Molecular, Neuropsychological, and Rehabilitation Aspects (Frontiers in Neuroengineering Series)*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor and Francis Group; 2015. 725 p.

REFERENCES

1. Koludarova EM, Tuchik ES. Aspects of postmortem diagnosis of diffuse axonal injury of the brain. *Bulletin of forensic medicine*. 2019;8(3):44–49. (In Russ.)
2. Romodanovskii PO. *Kompleksnaya sudebno-meditsinskaya diagnostika i ehkspertnaya otsenka povrezhdenii golovnogo mozga pri travme golovy* [dissertation abstract]. Moscow; 1996. Available from: <https://search.rsl.ru/ru/record/01000041957>. (In Russ.)
3. Su E, Bell M. Diffuse Axonal Injury. In: Laskowitz D, Grant G. *Translational Research in Traumatic Brain Injury*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor and Francis Group; 2016. 436 p. doi: 10.1201/b18959
4. Geddes JF, Whitwell HL, Graham DI. Traumatic axonal injury: Practical issues for diagnosis in medicolegal cases. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2000;26:105–116. doi: 10.1046/j.1365-2990.2000.026002105.x
5. Barros CS, Franco SJ, Muller U. Extracellular matrix: Functions in the nervous system. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2011;3(1):a005108. doi: 10.1101/cshperspect.a005108
6. Maxwell WL. Development of concepts in the pathology of traumatic axon and traumatic brain injury. In: Kobeissy FH. *Brain Neurotrauma: Molecular, Neuropsychological, and Rehabilitation Aspects (Frontiers in Neuroengineering Series)*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor and Francis Group; 2015. 725 p.

ОБ АВТОРАХ • AUTHORS

* КОЛУДАРОВА Екатерина Мстиславовна, к.м.н., врач — судебно-медицинский эксперт [Ekaterina M. Koludarova, Candidate of Medical Sciences, Forensic medical expert]; 125284, г. Москва, ул. Поликарпова, д. 12/13 [address: 12/13 bld, Polikarpova str., 125284, Moscow, Russia], e-mail: koludarova@rc-sme.ru, SPIN-code: 5593-7492, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1989-7789>

ЗОРИКОВ Олег Вячеславович, врач — судебно-медицинский эксперт [Oleg V. Zorikov, Forensic medical expert]; e-mail: zorikov@rc-sme.ru, SPIN-code: 2215-6701, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1396-7881>

ТУЧИК Евгений Савельевич, д.м.н., профессор кафедры судебной медицины; заведующий организационно-методическим отделом [Evgeny S. Tuchik, Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Forensic Medicine; Head of the Organizational and methodological Department]; e-mail: tuchik@rc-sme.ru, SPIN-code: 1290-0060, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4330-2327>