

**Н.І.Горєлова**

Дніпропетровська державна  
медична академія

**Ключові слова:** кардіоміоцит, апоптозні клітини, міокард, серце людини, мікросудини.

*Надійшла: 03.10.2006*

*Прийнята: 26.10.2006*

УДК 611.013:611.12:591.412]:575.87

## **ХАРАКТЕРИСТИКА ГІСТОГЕНЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ У СЕРЦІ ЛЮДИНИ НА РАННІХ ЕТАПАХ КАРДІОГЕНЕЗУ**

**Резюме.** Метою даного дослідження було вивчення процесів тканинних та клітинних перебудов міокарда на ранніх етапах кардіогенезу людини. Об'єктом для дослідження послужили серця ембріонів та плодів людини. Використовувались стандартні методики фіксації, виготовлення гістологічних зрізів, з подальшим їх забарвленням гематоксиліном і еозином та метиленовим синім-азуром II-фуксином. У результаті проведеного дослідження були встановлені два відмінних характеру розподілу клітин з ознаками апоптозу у міокарді шлуночків. На 5-6 тижнях ембріонального розвитку простежувалось домінування вогнищового розподілення апоптичних клітин у субепікардіальних відділах міокарда. У інших ділянках шлуночків серця спостерігався дифузний характер розподілу клітин з ознаками апоптозу. На 8 тижні ембріогенезу людини відмічалось різке зниження кількості апоптичних клітин. У кінці ембріонального та на початку плодового періоду у шлуночковому міокарді спостерігався лише дифузний характер розподілу клітин з ознаками апоптозу. Апоптичні клітини розташовувались поодинокі у трабекулярному і компактному міокарді обох шлуночків. Встановлені етапи формування судин гемомікроциркуляторного русла у субепікардіальному відділі компактного міокарда та трабекулярному міокарді.

### **Gorelova N.I. The characteristic of histogenetic processes in the human heart during early cardiogenesis.**

**Summary.** The purpose of the research was to study the processes of tissue and cellular transformation of the myocardium on early stage of human cardiogenesis. The hearts of the human embryos and fetuses were used. The standard methods of fixation, making of histological slides and staining by hematoxylin-eosin and metylene blue-azur II-fuxin were used. The two different types of distribution of apoptotic cells in the myocardium of the ventricles were revealed. The dominance of multifocal distribution of apoptotic cells in subepicardial layer of myocardium was observed during 5-6 weeks of the embryonic development. The diffuse type of distribution of apoptotic cells in other areas of the ventricles was determined. The fast reduction of quantity of apoptotic cells was noted on the 8 week. The only diffuse type of distribution of apoptotic cells in the ventricle myocardium was observed at the end of embryonic and at the beginning of fetal period. The single apoptotic cells were distributed in trabecular and compact myocardium of the both ventricles. The stages of formation of the hemomircocirculatory vessels in the subepicardial zone of the compact myocardium and in trabecular myocardium were determined.

**Key words:** cardiomyocyte, apoptotic cells, myocardium, human heart, microvessels.

### **Вступ**

Не дивлячись на велику кількість фундаментальних робіт щодо морфогенетичних перетворень серця людини значну увагу дослідників привертає питання структурно-функціональних перетворень тканинних і клітинних компонентів у складі стінки серця. Використання потужного комплексу методів дослідження у здійсненні наукового пошуку обумовили досягнення значних успіхів у досліджуваній проблемі. За допомогою імуногістохімічних методів дослідники провідних лабораторій вивчають процеси програмованої клітинної загибелі (Regula K.M., Kirshenbaum L.A., 2005), проліферації (Tamamoti-Adachi M. et al., 2003), тканинного диференціювання (Lie-Venema H. et al., 2005). Доведена важлива роль нормального перебігу апоптозу при септації випускного тракту серця (Машталір М.А., 2005; Hernandez-Gutierrez S. et al., 2006). Результати групи вчених показали, що у кардіоміоцитах спостерігається мітохондріально-залежний механізм апоптозу (Sun Y. et al., 2005; Стеченко та співавт., 2006). Однак дані про характер та локалізацію клітин з ознаками апоптозу у міокарді шлуночків серця на етапах раннього кардіогенезу залишаються мало-

чисельними та суперечливими.

**Метою** даного дослідження було вивчення процесів тканинних та клітинних перебудов у міокарді шлуночків на ранніх етапах кардіогенезу людини.

### **Матеріали та методи**

Матеріалом для дослідження послужили серця людини на ранніх етапах онтогенезу. Матеріал ембріонів і плодів людини отримували з пологових будинків м. Дніпропетровська. Для визначення віку ембріонів і плодів проводили вимірювання тим'яно-куприкового і тим'яно-п'яточного розмірів, згідно рекомендацій Л.І.Фаліна (1976), також враховувались дані анамнезу та результати медичного обстеження вагітних. Усього було досліджено 30 об'єктів. Виготовлення серійних гістологічних зрізів та фарбування проводили за стандартними методиками (Ромейс Б., 1953).

### **Результати та їх обговорення**

На 5 тижні ембріонального розвитку людини у правому і лівому шлуночках серця визначався компактний і трабекулярний міокард. При цьому слід зазначити, що відмінності у структурі компактного міокарда були мінімальні та характеризувались різною його товщиною, з незначним пере-

важанням цього показника у стінці лівого шлуночка. Трабекулярний міокард мав більш гетерогенний характер. Трабекули в лівому шлуночку однорідні за своєю будовою, основа і верхівка їх однакові за товщиною. Всі вони спрямовані до центру лівого шлуночку. Трабекули в правому шлуночку мали пірамідальну форму. Вони мали широку основу, яка була вдвічі ширшою за верхівку трабекули. Зовні трабекула була вкрита ендотеліальним вистеленням (рис.1).

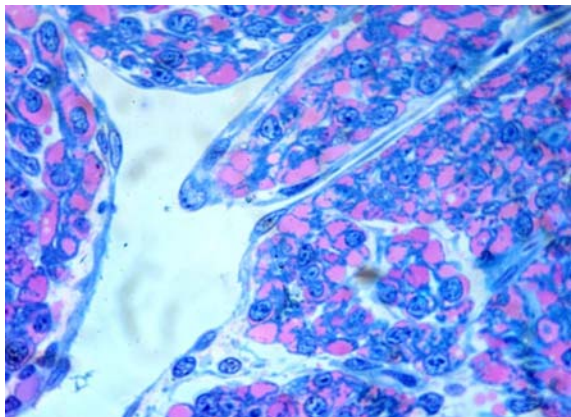


Рис.1. Напівтонкий зріз стінки правого шлуночку серця людини на 5 тиждень ембріонального розвитку. Забарвлення метиленовим синім – азуром II - основним фуксином.  $\times 1000$ .

Між контактуючими поверхнями трабекул спостерігались міжтрабекулярні простори - синусоїди, що були вистелені ендотелієм і заповнені форменими елементами крові. Більша кількість синусоїдів спостерігалась у лівому шлуночку (рис.2).

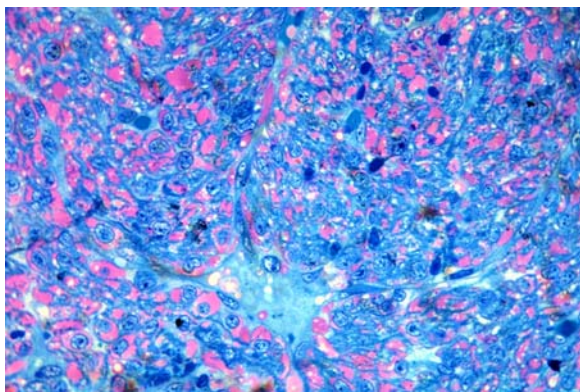


Рис.2. Міокард правого шлуночку серця людини наприкінці 4 тижня гестації. Забарвлення метиленовим синім – азуром II - основним фуксином.  $\times 1000$ .

На 5 тижні ембріонального розвитку людини спостерігалось пухке розташування кардіоміоцитів один відносно одного в компактному та трабекулярному міокарді обох шлуночків. Морфологія кардіоміоцитів була подібною в усіх вивчених ділянках. Кардіоміоцити мали овальне, витягнутої форми ядро, із світлим забарвленням цитоплазми. Границі між клітинами були нечіткими. У субепі-

кардіальних відділах обох шлуночків спостерігались поодинокі сформовані мікросудини, в просвіті яких знаходились формені елементи крові. У цих зонах у міжклітинному матриксі визначались ендотеліоподібні клітини з довгими відростками та центрально розташованим витягнутим, сплюсненим ядром.

На даному етапі ембріонального розвитку серед кардіоміоцитів у різних ділянках міокарда виявлялись клітини з ознаками апоптозу. Морфологічно вони відрізнялись від оточуючих клітин. Вони мали вигляд округлого або овального скупчення інтенсивно еозинофільної цитоплазми з щільними фрагментами ядерного хроматину. Характерним для них було ущільнення та зменшення розмірів, відмежування від оточуючої тканини світлим вінцем. (рис.3).

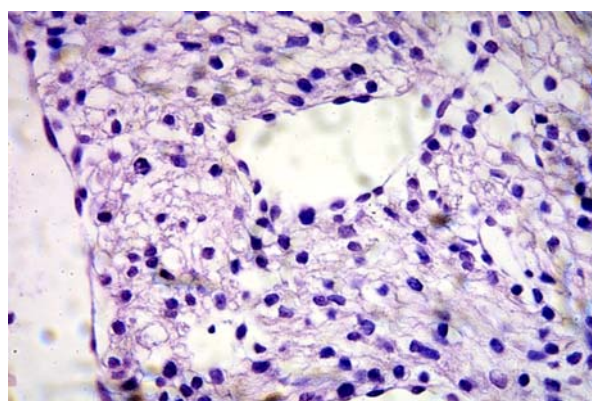


Рис.3. Стінка лівого шлуночка серця людини на 5 тиждень гестації. Забарвлення гематоксилін-еозином. Стрілками вказані апоптозні клітини.  $\times 400$ .

Спостерігались також апоптозні тільця, в яких конденсований хроматин вільно розташовувався в цитоплазмі. Клітини з ознаками апоптозу виявлялись і в трабекулярному, і в компактному міокарді. Переважно їх розташування мало дифузний характер у вигляді поодиноких клітин у вивчених ділянках. Однак, у субепікардіальних відділах компактного міокарда спостерігалась вогнищевість розподілу апоптозних клітин. У цих ділянках вони були розташовані невеликими групами по 2-3 клітини серед кардіоміоцитів. Характер змін цих клітин суттєво не відрізнявся від інших з ознаками апоптозу. Наряду з тим, що у субепікардіальних відділах компактного міокарда спостерігалась найбільша кількість апоптозних клітин, найбільша кількість фігур мітозу визначалась у цих же ділянках міокарда.

На 6 тижні ембріонального розвитку людини спостерігалась позитивна динаміка щодо компактизації міокарда. У всіх вивчених зонах обох шлуночків спостерігалось більш щільне розташування кардіоміоцитів у порівнянні з 5 тижнем розвитку. Забарвлення цитоплазми ставало більш інтенсивним. Ядра кардіоміоцитів набували більш кулястої форми. У компактному міокарді обох шлуночків збільшувалась кількість ендотеліоподібних клі-

тин, що розташовувались серед кардіоміоцитів у вигляді міжклітинних тяжів. Сформовані судини, у просвіті яких знаходились формені елементи крові, локалізувались переважно у субепікардіальних відділах міокарда (рис.4).

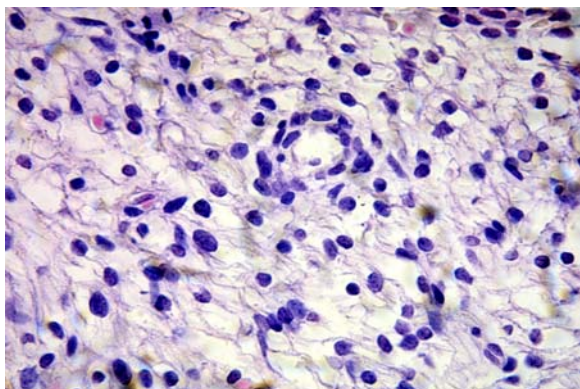


Рис.4. Глибокі зони компактного міокарда лівого шлуночка серця людини на 6 тижень гестації. Забарвлення гематоксилін-еозином.  $\times 400$ .

На даному етапі розвитку дифузний характер розподілу клітин з ознаками апоптозу суттєво не змінювався і домінував у своєму прояві над вогнищевим розташуванням таких клітин. Як і на попередньому етапі у субепікардіальних відділах міокарда обох шлуночків визначались скупчення апоптичних клітин у кількості 2-3, що були розташовані серед незмінних кардіоміоцитів. У інших ділянках міокарда шлуночків визначався дифузний характер розподілу клітин з ознаками апоптозу. Слід зазначити, що у трабекулярному міокарді апоптичні клітини зустрічались частіше в основі трабекул, ніж на її верхівках. При порівнянні розподілу клітин з ознаками апоптозу у правому і лівому шлуночках суттєво значимих відмінностей виявлено не було.

На 8 тижні ембріонального розвитку людини спостерігалась подальша компактизація міокарда, яка відбувалась за рахунок збільшення щільності кардіоміоцитів. На цьому етапі розвитку вперше визначалась перевага компактного міокарда над трабекулярним, а не навпаки, як на попередніх етапах. У компактному міокарді обох шлуночків спостерігались примітивні фібробласти. Вони мали веретеноподібну форму, витягнуте ущільнене ядро, яке розташовувалось вздовж клітини. Ембріональна судинна система у стінці шлуночків серця найбільше була розвинена у субепікардіальних його відділах. У складі трабекул серед кардіоміоцитів спостерігались тяжі ендотеліоподібних клітин, що розташовувались групами між кардіоміоцитів і простягалися від основи трабекули до її верхівки. Кінець ембріонального періоду характеризувався різким зниженням кількості виявлених клітин з ознаками апоптозу. У стінці обох шлуночків на цьому етапі розвитку спостерігався винятково дифузний характер розподілу апоптичних клітин, що суттєво відрізнялось від попере-

дніх етапів, на яких у субепікардіальних відділах спостерігалась вогнищевість клітин з ознаками апоптозу. Слід зазначити, що наряду зі зменшенням кількості апоптичних клітин подібна негативна динаміка спостерігалась і при виявленні фігур мітозу у стінках шлуночків.

На 10 тижні плодового періоду спостерігалась подальша компактизація кардіоміоцитів у вивчених зонах. На цьому етапі розвитку значно зменшувалась гетерогенність трабекулярного міокарда у правому і лівому шлуночках. Трабекули мали більш наближені риси, ніж на попередніх етапах. Вони мали поздовжній напрямок від верхівки серця до атріовентрикулярної області. В апікальній частині шлуночків спостерігався найбільший розвиток трабекул у порівнянні з іншими частинами. На початку плодового періоду виявлялась позитивна динаміка накопичення фібробластів, які розташовувались між кардіоміоцитами. Клітини зберігали свою веретеноподібну форму та витягнуте, ущільнене ядро. На цьому етапі розвитку фібробласти з'являлись серед кардіоміоцитів у складі трабекул. Значно збільшувалась кількість функціонуючих судин, про що свідчило збільшення об'єму просвіту судин в усіх вивчених ділянках. У трабекулах поряд з ендотеліальними тяжами клітин визначались сформовані судини. На 10 тижні плодового періоду істотних змін щодо кількості та характеру розподілу клітин з ознаками апоптозу не відмічалось. Як і наприкінці ембріонального періоду спостерігалось поодинокі розташування клітин у трабекулярному та компактному міокарді обох шлуночків серця.

На 12 тижні плодового періоду спостерігалось значне переважання компактного міокарда над трабекулярним. Трабекули зберігали поздовжній напрямок від верхівки серця до атріовентрикулярної області. На даному етапі розвитку спостерігались поодинокі двоядерні кардіоміоцити, які розподілялись рівномірно серед одноядерних кардіоміоцитів. У міокарді обох шлуночків спостерігалась позитивна динаміка щодо присутності фібробластів, їх кількість значно збільшувалась і в трабекулярному, і в компактному міокарді у порівнянні з попередніми етапами розвитку. Збільшувався об'єм функціонуючих мікросудин у трабекулярному міокарді. Кардіоміоцити щільно прилягали один до одного.

На даному етапі розвитку спостерігалась різка від'ємна динаміка щодо розподілення клітин з ознаками апоптозу. Зрідка у компактному та трабекулярному міокарді зустрічались апоптичні клітини. На подальших стадіях розвитку серця у стінках шлуночків рідко виявлялись клітини з ознаками апоптозу. Характер морфологічних змін у цих клітинах був аналогічним таким, що виявлялись і на попередніх етапах розвитку.

#### Висновки

1. Встановлені два відмінних характеру розподілу клітин з ознаками апоптозу у міокарді шлуночків – вогнищевий та дифузний.
2. Вогнищевий характер розподілу апоптичних клітин виявляється лише в субепікардіальних

відділах міокарда на 5-6 тижнях ембріонального розвитку людини. В усіх інших вивчених ділянках спостерігається дифузний характер розподілу клітин з ознаками апоптозу.

3. З 8 тижня ембріонального розвитку людини та на початку плодового періоду відмічається лише дифузний характер розподілу клітин.

4. Темп розвитку компонентів гемомікроциркуляторного русла у стінці шлуночків серця людини переважає у субепікардіальних відділах міо-

карда у порівнянні з трабекулярним міокардом на етапах раннього кардіогенезу.

#### **Перспективи подальших розробок**

Перспективою подальших досліджень є проведення ультраструктурного аналізу ступеня диференціювання кардіоміоцитів і апоптичних клітин у складі міокарда серця людини на етапах пренатального онтогенезу. Визначення механізмів запуску апоптозу кардіоміоцитів.

#### **Літературні джерела**

Машталир М.А. Апоптозы в эмбриональном сердце // Вісн. пробл. біол. і мед.- 2005.- №3.- С.131-135.

Ромейс Б. Микроскопическая техника: Пер. с нем.- М.: Изд-во иностр. литер., 1953.- 718 с.

Тканиноспецифічність морфологічних проявів апоптозу / Стеченко Л.О., Куфтирева Т.П., Петренко В.А. та ін. // Таврический мед.-биол. вестн.- 2006.- Т.9, №9, Ч.ІІІ.- С.191-195.

Фалин Л.И. Эмбриология человека.- М.: Медицина, 1976.- С.35-37.

Critical role of cyclin D1 nuclear import in cardiomyocyte proliferation / Tamamori-Adachi M., Ito H., Sumrejkanchanakij P. et al. // Circ. Res.- 2003.- Vol.10, №24.- P.1-8.

Disruption of Smad5 gene induces mitochondria-dependent apoptosis in cardiomyocytes

/ Sun Y., Zhou J., Liao X. et al. // Exp. Cell. Res.- 2005.- Vol.15, №306.- P.85-93.

Myocardial heterogeneity in permissiveness for epicardium-derived cells and endothelial precursor cells along the developing heart tube at the onset of coronary vascularization / Lie-Venema H., Eralp I., Maas S. et al. // Anat. Rec.- 2005.- Vol.282, №2.- P.120-129.

NF-kappaB signaling blockade by Bay 11-7085 during early cardiac morphogenesis induces alterations of the outflow tract in chicken heart / Hernandez-Gutierrez S., Garcia-Pelaez I., Zentella-Dehesa A. et al. // Apoptosis.- 2006.- Vol.11, №7.- P.1101-1109.

Regula K., Kirshenbaum L. Apoptosis of ventricular myocytes: a means to an end // J. Mol. Cell. Cardiol.- 2005.- Vol.38, №1.- P.3-13.

#### **Горелова Н.И. Характеристика гистогенетических процессов в сердце человека на ранних этапах кардиогенеза.**

**Резюме.** Целью данного исследования было изучения процессов тканевых и клеточных перестроек миокарда на ранних этапах кардиогенеза человека. Объектом для исследования послужили сердца эмбрионов и плодов человека. Использовались стандартные методики фиксации, изготовления гистологических срезов, с дальнейшей их окраской гематоксилином и эозином и метиленовым синим-азуром П-фуксином. В результате проведенного исследования были установлены два различных характера распределения клеток с признаками апоптоза в миокарде желудочков. На 5-6 неделях эмбрионального развития прослеживалось доминирование очагового распределения апоптических клеток в субэпикардиальных отделах миокарда. В других участках желудочков сердца наблюдался диффузный характер распределения клеток с признаками апоптоза. На 8 неделе эмбриогенеза человека отмечалось резкое снижение количества апоптических клеток. В конце эмбрионального и в начале плодового периодов в желудочковом миокарде наблюдался лишь диффузный характер распределения клеток с признаками апоптоза. Апоптические клетки располагались единично в трабекулярном и компактном миокарде обоих желудочков. Установлены этапы формирования сосудов гемомікроциркуляторного русла в субэпикардиальном отделе компактного миокарда и трабекулярном миокарде.

**Ключевые слова:** кардиомиоцит, апоптические клетки, миокард, сердце человека, микрососуды.