

В.О.Козлов
В.Ф.Шаторна
М.А.Машталір

Дніпропетровська державна
медична академія

УДК 611.12:611.013.9]:57.017.22

НОРМАЛЬНИЙ КАРДІОГЕНЕЗ ТА ВПЛИВ ДЕЯКИХ ТЕРАТОГЕННИХ ФАКТОРІВ НА РОЗВИТОК СЕРЦЯ

Ключові слова: серце, ембріональний розвиток, гіпоксія, гіпертермія, етанол, ретиноева кислота, вади розвитку.

Надійшла: 11.10.2006

Прийнята: 06.11.2006

Резюме. Проведено аналіз та зіставлення результатів експериментальних досліджень співробітників кафедри та даних літератури стосовно етапів кардіогенезу в нормі та при формуванні вад розвитку серця під впливом гіпертермії, гіпоксії, етанолу та ретиноевої кислоти. Узагальнення результатів впливу тератогенних факторів на розвиток серця показало, що найчастіше зустрічається загальна затримка розвитку зародка на декілька стадій, порушуються терміни формування міжпередсердної та міжшлуночкової перегородок, не відбувається своєчасного закриття міжшлуночкового отвору, серцева стінка у передсердних та шлуночкових камерах та ендокардіальні подушки ембріонального серця розвиваються аномально. У більшості зародків порушення цих базових процесів кардіогенезу призводило до аномального розвитку передсердно-шлуночкових клапанів, клапанів аорти та легеневого стовбуру. Ми також спостерігали спектр вад серця, що включали дефект міжшлуночкової перегородки, декстрапозицію аорти, подвійний випускник правого шлуночку, повну транспозицію магістральних судин. Отримані дані свідчать про участь нервового гребеня у формуванні вад розвитку серця. Серед зовнішніх вад розвитку цілого ембріона спостерігалось порушення флексії та торсії, порушення розвитку краніального відділу зародка, а також зустрічалися серцева ектопія та пупкова грижа.

Kozlov V.O., Shatorna V.F., Mashtalir M.A. The normal cardiogenesis and after some teratogens treatment.

Summary. The analysis and comparison of the our experimental results and the data of other researchers about the stages of normal and abnormal cardiogenesis under the influence of hypotermia, hypoxia, ethanol, retinoic acid were made. The common retardation of embryonic development is the most often case after teratogens factor treatment as well as the delay in interventricular and intratrial septa development, not complete closure of interventricular foramen, abnormal development of the heart wall and endocardial cushions in all chambers of the embryonic heart. The altering of the basic cardiogenic processes caused the abnormal development of atrioventricular valves as well as aortic and pulmonary trunk valves in most embryos. The spectrum of heart defects including defect of interventricular septum, double outlet of right ventricle and complete transposition of great vessels was observed. Our data suggest that the neural crest cell play a role in the abnormal heart development. The abnormal flexio and torsio of the embryo, the malformation of the cranial portion of embryo, the cardiac ectopia and umbilical herniation among external abnormalities were also observed.

Key words: heart, embryonic development, hypertermia, hypoxia, ethanol, retinoic acid, birth defects.

За останні десятиріччя виникли нові якісні зміни в розвитку методів лікування вад серця раніше неоперабельних дітей, особливо новонароджених, але потреби медичної галузі вимагають досконалого розуміння особливостей і закономірностей як нормального розвитку органа, так і формування можливих вад. Серцево-судинні захворювання складають один з головних розділів патології дитячого віку та призводять до високої інвалідизації та смертності (Кириякулов Г.С. и соавт., 2000).

Зниження питомої ваги таких хвороб, як ревматизм призвело до зниження числа набутих вад серця, але більш актуальними стають проблеми, пов'язані з уродженими вадами серця, а саме термінами і механізмами їх формування, особливо на етапах раннього кардіогенезу (Козлов В.О. та співавт., 2003; Нуджент Э.В., 2000; Мутафьян О.А., 2002). Бажання зрозуміти формування уроджених вад і аномалій серця та судинної системи обумовлює подальший інтерес до проблеми ембріонального розвитку серця (Кириякулов Г.С., 1994; Khloronin P., 1976; Anderson R., Wenink A.S.,

1988; Buckiova D. et al., 1998; Oosthoek P. et al., 1998). Ранні дослідження, що стосуються серця ембріона, забезпечили основу для розуміння закономірностей розвитку серця, однак процес утворення вад розвитку тих чи інших структур серцево-судинної системи залишається невисвітленим.

Останнім часом використання нових методів істотно розширили знання і дозволили досліджувати функцію серця, внутрішньо-серцевий кровообіг, формування позаклітинного матриксу, клітинну проліферацію, клітинну смерть, міграцію клітин при нормальному й аномальному розвитку серця (Козлов В.А. и соавт., 2001; 2002; 2003; Горелова Н.І., Сілкіна Ю.В., 2004; Сілкіна Ю.В., 2005).

У цьому аспекті набуває значення медична ембріологія і порівняльна ембріологія та їх методи дослідження. Результати порівняльно-анатомічних та порівняльно-ембріологічних досліджень мають теоретичне (визначення шляхів та механізмів еволюції) та практичне (вибір експериментальних тварин для вірної інтерпретації даних та їх екстраполяції на організм людини) значення. Роз-

робка методів експериментальних моделей уроджених вад серця та магістральних судин привертає увагу багатьох дослідників (Кириякулов Г.С., 1994; Кириякулов Г.С. и соавт., 2000; Гатауллин Н.Г. и соавт., 2001; Nakazawa M. et al., 1986; Van Golde J. et al., 1991).

У доступній нам науковій літературі зустрічається велика кількість робіт, присвячених окремо вивченню морфометричних показників серця, динаміці їх змін в онтогенезі, і лише незначна кількість робіт останніх років, що стосуються ембріогенезу серця та впливу таких тератогених факторів як гіпоксія, гіпертермія, етанол та ретиноєва кислота (Richards M. et al., 1990; Upfold J. et al., 1991; Buckiova D. et al., 1998; Mulder A. et al., 1998), особливо їх вплив на перебіг раннього ембріогенезу. Актуальним є зіставлення етапів розвитку серця людини та тварин на ранніх етапах кардіогенезу та розробка нормограми паралельності етапів розвитку, визначення моделі управління морфогенетичними перетвореннями серця.

Вплив етилового алкоголю на формування серцево-судинної системи курячих зародків досліджується протягом багатьох років. Серед інших авторів одними з перших використали найбільш ефективну модель формування вад серця у курячих зародків Fang T. et al. (1987). У цій та інших роботах (Keller B. et al., 1996; Uphoff C. et al., 1984) був встановлений спектр вад, що включали дефект міжшлуночкової перегородки (ДМШП), подвійний випускник правого шлуночка (ПВПШ), аномалії розвитку зябрових судин. У подальших дослідженнях було встановлено, що концентрація етанолу після введення на 3 добу інкубації залишається високою в альбуміні курячого яйця протягом однієї доби після введення, та при введенні 0,2-0,25 мл 50%-ного етанолу наближається до рівня, що спостерігається після алкогольної інтоксикації у людини (Bryere H. et al., 1994).

Формування вад розвитку у мишей після впливу етанолу давно є об'єктом досліджень (Randall C. et al., 1977). Найбільш доцільною моделлю для вивчення впливу етанолу саме на формування серця у мишачих зародків є введення тератогену в середині 9 доби вагітності. Першими дослідниками, що використали цю модель, були Webster W. et al. (1984) та Daft P. et al. (1986). Автори визначили основні вади серця та судин внаслідок дії етанолу, що включали ДМШП, ПВПШ, аномалії розвитку зябрових судин. За даними Daft P. et al. (1986) на 12 добу ембріогенезу після впливу етанолу спостерігали відхилення у розвитку конуса та стовбуру серця та подушок АВ каналу, а також аномальне положення АВ каналу. Після 13 доби спостерігався широкий спектр аномалій конусних подушок, що призводило до ДМШП або до відсутності конусної перегородки. Інші аномалії розвитку серця включали ПВПШ; також розвивалися вади зябрових артерій, їх перерваний хід, правобічна аорта. Спектр аномалій в експериментальних моделях нагадує ті, що спостерігались при алкогольному синдромі та при синдромі Ді-Джорджі.

Ретиноєва кислота – активний метаболіт вітаміну А – є тератогеном, який може викликати вади розвитку серця. Однією з моделей аномального тератогенеза за допомогою повного трансізомера РК на курячих зародках є вплив на 15 стадії за Humberger, Hamilton. У результаті таких експериментів було виявлено, що найбільш поширеними вадами розвитку серця є ПВПШ (до 27%), ізольований ДМШП (до 27%), декстрапозиція артеріального конуса; також зустрічаються аномальне положення субаортального випускного тракту в поєднанні з ДМЖП (до 32%) і без ДЖМП (до 27%), подвійний випускний тракт лівого шлуночка (до 2%) . У мишей після впливу РК у порівнянні з іншими об'єктами частіше спостерігається повна транспозиція магістральних судин (ПТМС) – до 80 %. Морфогенез розвитку вади цього типу досліджений в циклі робіт Yasui Y. et al. (1995a, 1997b), Nakajima Y. et al. (1997) Початковими подіями під час формування ПТМС є гіпоплазія конусних подушок, відсутність спірального ходу конотрункальної порожнини.

У даний час вдалося встановити, що порушення, викликані змінами в обміні ретиноїдів, стосуються складових гістогенезу, що визначають морфогенез органу, та призводять до органогенетичних відхилень. Зокрема, аномальні зміни концентрації ретиноєвої кислоти в кардіогенезі: пригнічують проліферативну активність мезенхімоцитів в АВ подушках і кардіоміоцитів пригнічують епітеліо-мезенхімну трансформацію (ЕМТ) в мезенхімних структурах серця; впливають на саркомогенез; порушують диференціювання кардіоміоцитів і мезенхімних клітин; змінюють склад позаклітинного матриксу в мезенхімних структурах серця, безпосередньо впливаючи на експресію білків матриксу або через зміни синтезу ростових факторів, що трансформують; посилюють апоптотичну активність у критичних зонах серця, що розвивається. На органному рівні це призводить до дисморфічного петлеутворення та подальшого формування певної вади. Один із шляхів морфогенезу вад серця під впливом ретиноїдів, можливо, пов'язаний з порушенням міграції та диференціювання клітин частини НГ, що мігрує у серце. Такого висновку дійшли, ґрунтуючись на співпадінні певних аномалій органу, що розвиваються при дії РК, і при видаленні НГ. Припускають, що РК може порушувати як диференціювання цього похідного ектодерми, що втілюється у зміні форми клітин НГ і їх контактів, так і їх міграції в серці.

У наших дослідженнях було встановлено механізми кардіогенезу, етапи розвитку серцевої стінки та серцевих перегородок, а також клапанного апарату в нормі та при формуванні вад розвитку під дією гіпоксії, гіпертермії, етанолу, ретиноєвої кислоти.

Під час петлеутворення серце складається тільки з трьох шарів: міокарда, кардіогеля, ендокарда. Після завершення петлеутворення, на той час, коли ембріон людини має довжину 5-6 мм, зовнішня форма серця нагадує форму зрілого сер-

ця. Внутрішня структура серця залишається простою трубкою з декількома розширеннями. Загальне передсердя, як і раніше, з'єднується з впускним сегментом (примітивним шлуночком) через нерозділений атріовентрикулярний (АВ) канал. Процес поділу серця перегородками відбувається завдяки декільком механізмам, при цьому завершення формування різних структур здійснюється в різний час. Цілом цей процес завершується між 26 і 37 днем ембріонального розвитку. Перед поділом серця кров проходить через єдиний отвір з передсердя у впускний сегмент і через первинний отвір у впускний сегмент (рис.1).

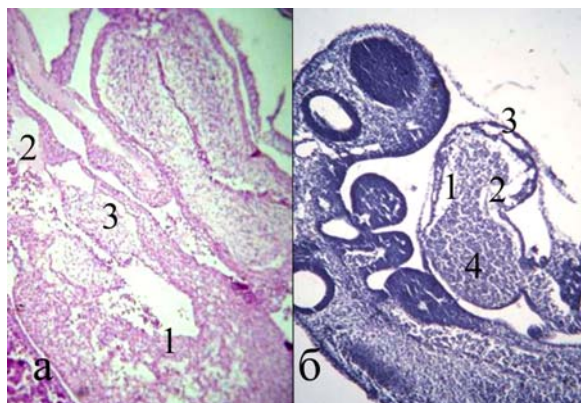


Рис.1. Серце ембріона людини на 6 тижні ембріогенезу (а). Забарвлення гематоксиліном-еозином. $\times 100$: 1 – шлуночок; 2 – передсердя; 3 – атріовентрикулярний канал. Сагітальний зріз ембріона курки на стадії розвитку 17 (60 годин інкубації). (б). Забарвлення залізним гематоксиліном Гейденгайна. $\times 40$: 1 – передньо-верхня ендокардіальна подушка; 2 – задньо-нижня ендокардіальна подушка; 3 – стінка шлуночку; 4 – передсердя.

Поділ перегородкою атріовентрикулярного каналу починається з появи злиття безкліткових мас ендокардіальних подушок на верхній і нижній межі атріовентрикулярного отвору в ембріона з тім'яно-куприкова довжиною (ТКД) приблизно 6 мм. Ці ендокардіальні подушки збільшуються, стають вираженими структурами. На цій стадії вони, ймовірно, функціонують як клапани.

Природа ендокардіальних подушок і механізм їхнього формування - предмет численних досліджень і припущень. Кардіогель рівномірно розподіляється в стінці серцевої трубки на ранніх стадіях, але пізніше редукується в області передсердя та шлуночку, і зберігається лише в атріовентрикулярному каналі. Коли подушки сформовані, вони відносно малоклітинні, але ендокардіальні клітини починають мігрувати в подушки і відбувається епітеліально-мезенхімальна трансформація (EMT). На наш погляд, формування ендокардіальних подушок відбувається у такий спосіб: як тільки утворилося трубчасте серце ендотелій і міокард розділені між собою кардіогелем, тобто вони віддалені один від одного на значну відстань, ця відстань по всій довжині серцевої трубки приблизно однакова і заповнена кардіогелем. Коли трубка починає S-подібно згинатися, майже по всій її

довжині починається зближення ендотелію і міокардіальної пластинки і злиття зазначених структур у єдине ціле – серцеву стінку. В області шлуночка та передсердя прошарок кардіогелю зменшується за рахунок зниження його синтезу кардіоміоцитами, таким чином спостерігається його часткова резорбція, а в атріовентрикулярному каналі і в області артеріального стовбуру синтез позаклітинного матриксу, що утворює кардіогель, зберігається і формуються так звані “ендокардіальні подушки”.

Ці утворення представляють собою здуття, заповнені кардіогелем і звернені у просвіт серцевої трубки. Вони розташовані на межі між майбутнім передсердям та майбутнім шлуночком, тобто в атріовентрикулярному каналі. Збільшуючись нерівномірно в об'ємі, вони утворюють у просвіті атріовентрикулярного каналу дві великих ендокардіальних подушки: передньо-верхню та нижньо-задню і дві малих латеральних, які розташовані по бокам від великих подушок. Ендокардіальні подушки прилягають до міокарда атріовентрикулярного каналу, поблизу якого зберігається прошарок кардіогелю.

З початку їхнього формування весь простір подушки заповнений кардіогелем, але пізніше, у результаті епітеліально-мезенхімальних перетворень, вони заповнюються мезенхімальними клітинами. Мезенхімальні клітини утворюються з ендотелію ендокардіальних подушок та розмножуючись починають поступово заселяти об'єм ендокардіальних подушок, замінюючи кардіогель.

Кардіогель представлений позаклітинним матриксом, що містить в собі радіально розташовані фібрили. Можливо, що зірчасті відростки позаклітинного матриксу кардіогелю стають основою для міграції та розповсюдження мезенхімальних клітин у просторі ендокардіальної подушки передсердно-шлуночкового каналу.

Кількість мезенхімальних клітин, що заселяють ендокардіальні подушки передсердно-шлуночкового отвору швидко зростає, і у період з початку епітеліально-мезенхімної трансформації (52 години) до кінця 3-ї доби вони розподілені рівномірно. Розподіл щільності мезенхімальних клітин починаючи з 72-ї години інкубації явно неоднаковий: по вільному краю подушки, зверненому в порожнину серця, щільність прилягання цих клітин максимальна; чим ближче до міокарда, тим рідше розташовані клітини, аж до поодинокого розміщення. На ранніх етапах ще зберігається кардіогель між мезенхімою подушки і міокардом. Внаслідок нерівномірного розподілу клітин, що заселяють подушки, нами було визначено три зони з різною питомою кількістю мезенхімальних клітин: субендокардіальна, проміжна, зона прилягання до міокарда атріовентрикулярного каналу. Кількість мезенхімальних клітин та їх форма досить виразно відрізняються в зонах ендокардіальних подушок.

В першій, субендокардіальній зоні, мезенхімальні клітини майже не мають відростків або ці відростки дуже короткі. Клітини розташовуються

досить щільно одна до одної та до ендокарду. У другій зоні, проміжній, клітини мають багато різноспрямованих відростків, тобто мають класичну форму мезенхімних клітин. Щільність розташування не досить густа, тому довжина відростків середня. У зоні прилягання до міокарда атріовентрикулярного каналу зберігається чітко виражений прошарок кардіогелю та присутня невелика кількість мезенхімних клітин. Форма клітин та їх відростків особлива, а саме: відростки спрямовані вздовж стінки атріовентрикулярного каналу.

Проліферація і зростання мезенхімних клітин ендокардіальної подушки, вочевидь, відбувається в субендокардіальній зоні, найближчій до просвіту серця - тут клітини розташовані щільним шаром і заповнення об'єму подушки клітинами починається саме від цієї зони.

На початкових етапах описуваних подій ендокардіальні подушки являють собою одношарову пластинку ендотелію, звернену в порожнину каналу з підлеглим, добре вираженим шаром кардіогелю. Форма ендотеліальних клітин сплюснена та усі клітини майже однакові за формою та розміром. Подальші дослідження показали, що при наближенні до стадії злиття подушок, форма ендокардіальних клітин змінюються у найбільш опуклій частині ендокардіальних подушок. В області майбутнього змикання ендокардіальних подушок мілких клітин зустрічається у 2 рази більше, ніж на всій поверхні подушки, тобто по краю змикання мабуть відбувається посилене утворення клітин. Це можна логічно пояснити тим, що на краю змикання механічний вплив на ендокардіальні подушки більший.

У ембріонів людини при тім'яно-куприковій довжині 10-11 мм подушки зливаються, розділяючи атріовентрикулярний канал на правий і лівий отвори. Наші дослідження показали, що ендокардіальні подушки атріовентрикулярного каналу відіграють значну роль у формуванні листків передсердно-шлуночкових клапанів, а міокард шлуночків бере участь у формуванні тензійного апарата. Одночасно з поділом каналу завершується формування первинної перегородки в передсердях. Об'єм ендокардіальних подушок на цей час майже повністю заповнений мезенхімними клітинами внаслідок епітеліально-мезенхімних перетворень, що спостерігаються в ендокарді.

Формування клапанів починається розшаруванням (делямінацією) верхньої частини міокарда шлуночків (рис.2). Об'єм подушок на цей період продовжує збільшуватися у лівій половині серця від $11,2 \pm 0,9\%$ від об'єму серця на ранніх стадіях до $22,3 \pm 2,1\%$ на більш пізніх стадіях. Розшарування продовжується разом з посиленням процесів трабекуляції і завершується відокремленням подушки разом з підлягаючим шаром міокарда. Делямінація шлуночку призводить до розшарування верхньої частини стінки на два неоднакової товщини шари. Внутрішній шар міокарда тонкий і несе на собі залишки ендокардіальної подушки, а зовнішній шар, який утворює саму стінку шлуночку зостається набагато товщим. Делямінація сті-

нки шлуночку не поглиблюється до низу, а залишається у вигляді щілини верхньої частини стінки. Порожнина у міокарді, що утворюється внаслідок делямінації вкрита шаром ендотелію, який залишається від ендотеліального шару первинних трабекул шлуночку.

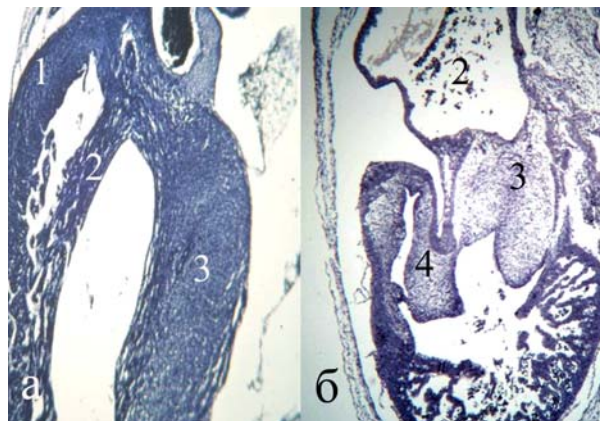


Рис.2. Розшарування стінки правого шлуночку ембріона курки строком інкубації 6 діб (а). Забарвлення залізним гематоксиліном Гейденгайна. $\times 100$: 1 – стінка шлуночка; 2 – внутрішня пластинка, що утворюється внаслідок делямінації; 3 – міжшлуночкова перетинка. Серце ембріона курки 5,5 діб інкубації (28 стадія розвитку за Гамбургером і Гамільтоном) (б). Забарвлення залізним гематоксиліном Гейденгайна. $\times 40$: 1 – стінка шлуночку; 2 – передсердя; 3 – злиття ендокардіальних подушок передсердно-шлуночкового отвору; 4 – ендокардіальні подушки артеріального стовбуру.

Сам процес делямінації полягає в наступних перетвореннях стінки шлуночка: прошарки міокарда верхньої частини шлуночкової стінки розташовані більш пухко в порівнянні з щільно лежачими кардіоміоцитами верхівки серця. Відстань між цими трабекулами поступово збільшується і утворюється розшарування стінки шлуночка на дві м'язові пластинки. На внутрішній поверхні цих звернених одна до одної пластинок добре виражена нерівність поверхні з-за посилених процесів трабекуляції, бо вся поверхня вкрита шаром різноспрямованих трабекул. Це розшарування (делямінація) більш чітко виражене спочатку у верхній частині шлуночку, але пізніше делямінація просувається нижче. Цю подію треба вважати моментом утворення правого передсердно-шлуночкового клапану. Вона припадає на 14-ту добу інкубації.

Передсердна поверхня цього м'язового листка покрита ендотеліальною вистилкою тому, що вона була внутрішньою стінкою шлуночка і несе на собі залишки ендокардіальної подушки. Шлуночкова поверхня утвореного листку поступово вкривається шаром ендотеліальних клітин ще на етапах делямінації так, що на момент утворення делямінаційної щілини ендотелій повністю вкриває нову частину стінки шлуночка та нижню поверхню клапана.

Закладка та формування колагенових волокон передсердно-шлуночкових клапанів проходить

одномоментно у стулці клапану, у соскоподібному м'язі та передсердношлуночкової борозні і міокарді. Тобто, колагенові волокна формуються єдиним пластом, який з'єднує міокард, стулку клапану та соскоподібний м'яз. Самі стулки клапану мають складчасту форму, бо мають надмірний розмір, тому на фотографіях зрізів серця ми бачимо лише частину цих складок. Основа стулок на даній стадії розвитку – це мезенхімні клітини, що мають класичну зірчасту форму, серед яких з'являються перші колагенові волокна.

Таким чином, шар колагенових волокон з початку процесу делямінації поєднує речовину стінки шлуночку, клапану та майбутнього соскоподібного м'язу у єдине ціле, всупереч уяві про з'єднання виросту передсердношлуночкової борозни та виросту міокарда шлуночку назустріч одне одному. Ця гіпотеза не здається вірогідною, тому що зустріч цих закладок (виростів) ускладнена скороченнями серця ембріона.

З самого початку свого існування усі елементи майбутнього клапанного апарату є єдиною структурою, яка на цей час вже існує як провізорний клапан. При цьому склад залишків ендокардіальних подушок являє собою скупчення мезенхімних клітин, вкритих шаром ендотелію і розташованих на тонкій пластинці компактного міокарда. Первинна сухожилкова струна складається з компактного міокарда та тонкого прошарку мезенхімних клітин. Первинний соскоподібний м'яз – це “підірваний” шар міокарда шлуночку, що не втратив з ним зв'язку.

Цікавим, на наш погляд є також механізм формування напівмісячних клапанів аорти та легеневого стовбуру. На ранніх етапах кардіогенезу ці дві судини мають єдине джерело – конотрункус, з якого вони розвиваються. Ми дослідили, що ендокардіальні подушки передсердно-шлуночкового отвору контактують з позасерцевою мезенхімою та переходять в ендокардіальні гребені артеріального стовбуру (конотрункусу). При цьому градієнт заповнення мезенхімними клітинами добре помітний: найбільша щільність мезенхімних клітин в ендокардіальних гребенях конотрункусу, трохи менша в ендокардіальних подушках передсердно-шлуночкового каналу та ще менша в дорзальному мезокарді (позасерцева мезенхіма). Ендокардіальні гребені, як показали наші дослідження, мають різну форму, але об'єм гребенів по середній лінії конотрункусу завжди залишався досить великим і сталим, тому що гребені ростуть назустріч один одному і з часом зростаються (як і подушки атріовентрикулярного каналу), розподіляючи конотрункус при цьому на аорту та легеневий стовбур. Досить добре виділяється значна частина заднього гребеню в вигляді “відростка”, зростання якого направлено вперед до ендокардіального гребеня передньої стінки конотрункусу. Цей “відросток” приймає активну участь у відокремленні конотрункусу від стінки шлуночка. Стінка конотрункусу представлена на ранніх стадіях розвитку шаром міокарда та пухко розташованими клітинами епікарда. Міокард стінки арте-

ріального стовбуру - це щільно упаковані клітини, між якими не виділяється просторів, вони розташовані у 3-4 шари і є продовженням міокарда шлуночків. Епікард ще не утворив єдиної щільної стінки ні з міокардом шлуночків, ні з міокардом конотрункусу, його формування закінчується на більш пізніх стадіях.

Закладка ендокардіальної подушки в області артеріального стовбуру відбувається паралельно закладці аналогічних структур в області атріовентрикулярного каналу. Спочатку, як і в атріовентрикулярному каналі, весь обсяг ендокардіальних здуттів заповнений кардіогелем, пізніше починаються процеси епітеліально-мезенхімних перетворень. На ранніх етапах кардіогель займає більшу площу ендокардіальних подушок конотрункусу, ніж мезенхімні клітини.

Утворення клапанів аорти та легеневого стовбуру починається відразу ж після розділення конотрункусу і відбувається з вмісту ендокардіальних подушок, що знаходилися в його основі. Ці клапани починають свій розвиток з накопичення мезенхімної тканини та розростання ендокардіальних подушок. Формування клапанного апарату аорти та легеневого стовбуру помітно відстає у часі від утворення передсердно-шлуночкових клапанів. Клапани конотрункусу представляють собою мезенхімні вирости у порожнину судин, основа яких значно збільшена і прикріплюється до стінки судини, а вільна поверхня звернена у простір судини - тонша. Ендотелій судини, не перериваючись, переходить на ці стулки клапану і щільність мезенхімних клітин більша під ним.

Формування колагену у стулках напівмісячних клапанів легеневого стовбуру відбувається аналогічно таким же процесам в аорті. Співпадає не тільки механізм утворення клапанів, а й терміни утворення та появи перших сполучнотканинних елементів. Хоча сам клапан містить у собі багато мезенхімних клітин, які розташовані ще пухко, але по краю стулки вже формується колагенове кільце, яке не перериваючись переходить в основу стінки легеневого стовбура.

Гістологічні дослідження з 3-го тижня ембріогенезу людини до 10 років життя установили вікові зміни в напівмісячних клапанах. На стадії 15 випускний канал, що має форму букви Н, формується чотирма підвищеннями тканини подушок. Два великих підвищення верхньому кінцю випускного гребеня. Два маленьких підвищення називаються вставними клапанами випинаннями. Тканина подушок не поширюється за межі міокардіальної мантиї і складається з ендотеліального шару та із зірчастих веретеноподібних клітин у розрізному матриксі. На стадії 16 (ТКД 9 мм) аортальний і легеневий випускні тракти чітко відокремлюються один від одного, і на стадії 17 останній по току крові набуває клапаноподібного виду. Кожна з великих подушок розділяється і дає початок двом листкам кожного клапана, вставне клапанне підвищення дає початок третьому листку. У наших дослідженнях сердець курячих зародків навіть на 20 добі інкубації клапани утворені мезе-

нхніми клітинами, серед яких можна виділити пучки міокарда та досить чіткий прошарок колагенових волокон.

Виділяючи основні етапи у формуванні серцевих камер, перегородок та клапанів як критичні періоди розвитку, ми спробували в такі ж моменти розвитку курячого зародка провести вплив гіпоксією і гіпертермією та провести моделювання вад розвитку серця. Досліджуючи вплив таких тератогенних чинників як гіпоксія та гіпертермія, ми спостерігали невластиву для нормального кардіогенезу картину нещільного прилягання епікарда до міокарда шлуночка. Це свідчить про затримку формування серцевої стінки. У наших дослідженнях епікард шлуночків ембріонального серця птахів після впливу гіпоксії розташовувався досить пухко по відношенню до міокарда, чого не спостерігається у нормі. Міокард шлуночків під впливом гіпоксії утворював «містки» між окремими трабекулами, що також було аномальним явищем. Це порушення формування стінки шлуночка пов'язане зі зсувом процесу делямінації стінки шлуночка на ранніх етапах розвитку. Порушення формування делямінаційної пластинки призводить до порушення утворення клапанів передсердно-шлуночкових отворів та трабекул внутрішнього шару шлуночків. Трабекули вкриті шаром ендотелію, який повністю зберігається і на поверхні «містків», але викриває їх досить пухко на відміну від самих трабекул.

Дослідження зрізів серця ембріонів курки, починаючи з 4-ї доби інкубації після впливу гіпертермії показали витончення стінки обох шлуночків у порівнянні з нормальним розвитком серця ембріонів контрольної групи. Нами відмічались деякі порушення формування стінки серця на цьому етапі розвитку. Вплив гіпертермії призводив також до змін у формуванні перегородок серця, а саме: порушення термінів та неповне формування міжшлуночкової перегородки. У нормі міжшлуночкова перегородка починає формуватися як щільний м'язовий виріст, що зростає від верхівки раннього ембріонального серця назустріч мезенхімі ендокардіальних подушок атріовентрикулярного каналу. На наступних стадіях кардіогенезу ці обидва джерела з'єднуються і формують повний розподіл загального шлуночку на правий та лівий. На препаратах серця, що підлягали впливу гіпертермії міжшлуночкова перегородка розпушена й виглядає як папілярно-трабекулярний апарат шлуночку з більшими просторами між пучками кардіоміоцитів ніж в нормі. Ці окремі тяжі вкриті ендокардом, тобто можна говорити про перфоративні отвори в міжшлуночкової перегородці, що мабуть, призводить до порушення роботи серця. З боку клапанного апарата, що формується на даному етапі розвитку аномалій не виявлено.

На наступних етапах розвитку, а саме, починаючи з 5-ї доби ембріогенезу курки ми спостерігали явне відставання у формуванні перегородок та порушення у формуванні стінок камер серця після впливу високими температурами. У нормі міжшлуночкова перегородка сформована, тобто

відбувається об'єднання мезенхімної та м'язової частини, на 5,5-ю добі інкубації. М'язова частина на цей час представлена щільними тяжами пучків кардіоміоцитів, має конусоподібну форму та не містить отворів. Після впливу гіпертермією ми спостерігали явне відставання у термінах об'єднання цих двох закладок перегородки, бо ще на 7-й добі інкубації зберігався міжшлуночковий отвір. Відрізнялась і гістологічна будова перегородки. М'язова частина перегородки зберігала численні перфорації і складалася з окремих тяжів, вкритих ендокардом. Такі тяжі нагадують трабекули шлуночків серця і в контрольній групі нами не спостерігались зовсім.

На 7-й добі інкубації зберігалось неповне формування серцевої стінки шлуночків із-за відставання ущільнення епікарду. У нормі епікард щільно прилягає до міокарда вже на 6-й добі розвитку та утворює єдину стінку серця. Нами спостерігалось розпушення мезенхіми епікарду, що свідчило про затримку кардіогенезу. Стінки передсердь у порівнянні з нормою були теж більш витончені, а самі порожнини передсердя збільшені. Трабекули передсердь на зрізах відрізнялися меншою кількістю та товщиною, що свідчить про відставання у формуванні стінок камер серця дією високих температур. Трабекули шлуночків не відрізнялись від норми і у формуванні клапанного апарату нами на даному терміні розвитку відхилень від норми не спостерігалось.

Як показали гістологічні дослідження ембріональних сердець, вплив гіпоксії на ранніх етапах ембріогенезу істотно змінює алгоритм формування стінки шлуночку серця. Зокрема, знижений вміст кисню приводив до патологічного потовщення стінки правого та лівого шлуночків у їх середній третині. Явно виражена неоднорідність товщини міокарда, на нашу думку, може приводити до порушення динаміки скорочення раннього серця. У ембріонів контрольної групи така картина нами не спостерігалася.

У міокарді шлуночків і передсердь нами виявлено більш високий ступінь васкуляризації у порівнянні з нормою. Очевидно, гіпоксія провокує активне проростання судин у межах компактного міокарда. Описаний період ембріогенезу в нормі характеризується формуванням протокапілярів шляхом каналізації міжклітинних просторів за рахунок агрегації веретеноподібних мезенхімних клітин. Але в серці ембріона, підданого впливу гіпоксії, істотно підвищувалася кількість функціонуючих розгалужених судин. У трабекулярному шарі міокарда проростання судин нами помічено не було в обох групах, тому що живлення цих елементів серцевої стінки здійснюється з порожнини серця. Звертає на себе увагу також те, що збільшується периваскулярний простір, а також збільшені інтерстиціальні проміжки між пучками кардіоміоцитів.

Питома площа судин у стінці міокарда правого шлуночка ембріона на цьому етапі розвитку після впливу гіпоксії становила $0,0686 \pm 0,001$, у той час як у нормі вона становила не більше

0,047±0,001. Таким чином, збільшення питомого числа судин у міокарді, підданому гіпоксії відбувається в 1,45 разів.

У наших дослідженнях після впливу РК на 15 стадії за НН розвитку курячих зародків та етанолу на 72 годинах інкубації виявлялася затримка у загальному розвитку зародків, але більшість характеристик розвитку серця затримувалися у більшому ступені, ніж загальна затримка. Основною тенденцією з боку серця було розширення його камер та надмірна видовженість відділів АВ каналу та конусно-стовбурового відділу серця після впливу РК. Прямий вплив цього тератогену на кардіоміоцити виявлявся у затримці розвитку міжпередсердної перегородки та стоншенні стінок камер внаслідок пригнічення клітинної проліферації. Менша товщина прошарку матриксу в подушках АВ каналі, конусу та стовбуру серця свідчила про обмеження секреторної активності кардіоміоцитів та мезенхімних клітин після впливу обох тератогенів. Швидкість перебігу ЕМТ була значно меншою за нормальну, що призводило до формування менш чисельної популяції мезенхімних клітин у подушках АВ каналу та конусно-стовбурового відділу серця на кожній з досліджених стадій. Отже, РК та етанол впливають на початкові стадії ЕМТ, що поряд з пригніченням синтезу речовини матриксу призводить до істотного пригнічення формування ендокардіальних подушок. У подушках зародків, що зазнавали впливу РК, не виявлялося клітин, які мігрували по міокарда, що свідчить про затримку міграції у серце клітин позасерцевого походження. Цілісність ендотелію ендокардіальних подушок після впливу РК часто була порушеною, що викликало пенетрації клітин крові у тканину подушок та навіть мілкоосередкові крововиливи. Можливо, що контакти ендотеліоцитів ставали менш щільними після дії РК.

Після впливу етанолу на курячі та мишачі зародки картини міграції мезенхімних клітин у матриксі ендокардіальних подушок відрізнялися від нормальних. Порушення міграційних процесів у АВ подушках, можливо, було викликано аномальною структурою матриксу, яка не дозволяла клітинам пересуватися від ендокарду. Часто накопичення кислих глікозаміногліканів у мезенхімних частинах серця було затриманим, що могло обмежувати інтенсивність ЕМТ та міграцію мезенхімних клітин.

Після впливу обох тератогенів відбувалася затримка у розвитку мишачих зародків взагалі та затримка у розвитку серця. Але у випадку з етанолом більшість зародків мала відхилення у розвитку серця, що належали до пригнічення формування камер та стінок серця без їхнього розширення, а після впливу РК спостерігалася розширення камер. Потоншення стінок у цьому випадку було пов'язано як з пригніченням проліферації, так із загальним розширенням серця. Розширення серця

було пов'язано з гемодинамічними порушеннями, схожими з тими, що мають місце після видалення НГ. Як і в серці курячих зародків, після впливу тератогенів основні процеси, що характеризують формування ембріонального серця, затримувалися або мали аномальний перебіг.

У всіх експериментальних зародків затримувалася розповсюдження щільної мезенхіми, що походить з НГ, від області зябрових артерій і аортального мішка в мезенхіму стовбура. Завдяки цьому несвоєчасно утворювалася перегородка між аортою та майбутнім легеневим стовбуром у стовбуровому відділі ембріонального серця. Порушення у формуванні перегородок аортального мішка та стовбура серця не були пов'язані із загальною затримкою розвитку ембріона, бо навіть якщо стадія розвитку співпадала з нормою, перегородки конуса та стовбура залишалися недорозвиненими. Таким чином, обидва тератогени впливали на популяцію клітин НГ, що мігрують до серця. Недорозвиненість ендокардіальних подушок як стовбура, так і конуса серця, що спостерігалась в обох видів, також робила внесок до несвоєчасного утворення перегородок цих відділів.

На строк моніторингу вад розвитку серця, що відповідає закінченню септації серця (у курки – 8 доба інкубації, у миші – 14 доба гестації), у курячих зародків після дії етанолу ПВПШ виникає у 5,1% випадків, дектрапозиція аорти (ДА) – у 7,7%, ізольований ДМШП – у 64,1%; після дії РК ПВПШ формується у 15,1% зародків, ДА – у 28,3%, ПТМС – у 1,88%, ізольований ДМШП – у 18,9%. У мишачих зародків після дії етанолу ПВПШ формується у 7,5% випадків, ДА – у 10,0%, ізольований ДМШП – у 52,5%; після дії РК ПВПШ утворюється у 10,2% зародків, ДА – у 6,12%, ПТМС – у 68,4%, ізольований ДМШП – у 6,1%. Спільними механізмами формування вад після впливу обох тератогенів була затримка скорочення конусно-стовбурового відділу серця через пригнічення апоптотичних процесів, порушення у формуванні перегородок серця. У патоморфогенезі ПТМС у мишачих зародків має місце відсутність ротації порожнини конусно-стовбурового відділу серця. Після впливу тератогенів виживаність зародків постійно знижувалася протягом ембріогенезу та зростала частка зародків, що мають зовнішні вади розвитку та серцеві вади.

Ми також констатували морфологічні феномени, що свідчать про участь НГ у формуванні вад розвитку серця після дії етанолу та РК. Це обмеження міграції щільної мезенхіми, що має походження з НГ, від зябрових дуг до стовбуру серця, затримка внаслідок цього утворення перегородки стовбуру, зниження інтенсивності апоптотичних процесів у конусі та стовбурі серця, міокарді та мезенхімі АВ каналу, місця формування провідної системи серця, дилатація серцевих камер, а також значна частка ДМШП, ДА, ПВПШ у спектрі вад.

Літературні джерела

Анатомія складних вроджених пороков серця / Г.С. Кирьякулов, В.А. Васильев, Т.В. Бородий и др.- Донецк, 2000.- 328 с.

Анатомія сосочкових м'язів і сухожильних нитей у плодів / Козлов В.А., Довгаль Г.В., Шаторная В.Ф. и др. // Мат. IV Междунар. конгр. по інтегративній антропологии.- Санкт-петербург, 2002.- С.171-172.

Гатауллин Н.Г., Плечев В.Л., Ильтерьяков Т.К. Наш опыт хирургического лечения дефектов межпредсердной перегородки // Бюлл. НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН.- 2001.- Т.2, №6.- С.17.

Горелова Н.І., Сілкіна Ю.В. Гістогенетичні процеси в ранньому кардіогенезі людини // Вісник проблем біології і медицини.- 2004.- №4.- С.78-84.

Закладка папілярних м'язів і сухожильних нитей серця в ранньому ембріогенезі / Козлов В.А., Шаторная В.Ф., Довгаль Г.В. и др. // Мат. I Всеукраїн. наук.-пр. конф. „Україна наукова 2001”.- Дніпропетровськ, 2001.- С.17-18.

Розвиток серця / Козлов В.О., Машталіп М.А., Довгаль Г.В. та ін. // 36. стат. міжнар. конф. “Саміт нормальних анатомів України та Росії”.- Тернопіль, 2003 р.- Тернопіль: Укрмедкнига, 2003.- С.58-61.

Мутафьян О.А. Врожденные пороки сердца у детей.- Санкт-Петербург, 2002.- 210 с.

Нуджент Э.В. Врожденные пороки сердца // Клиническая кардиология; Под ред. К. Шланта и Р. Александера: Пер. с англ.- СПб.: Невский диалект, 200.- С.259-286.

Прикладная анатомия сердца / Под ред. В.А. Козлова.- Днепропетровск: Пороги, 1996.- 173с.

Сілкіна Ю.В. Порівняльна характеристика перетворень архітектури міокарда в ранньому серці у представників хребетних // Мат. II Всеукр. морфол. наук. конф. „Карповські читання”.- Дніпропетровськ, 2005.- С.55-57.

Сонин Б.В. Влияние этилового алкоголя, никотина и их сочетания на некоторые показатели развития куриного зародыша // Фармакология, токсикология.- 1981.- Т.XLIV, №3.- С.347-353.

Экспериментальное моделирование врожденных пороков сердца и магистральных сосудов / Под ред. Г.С. Кирьякулова.- Київ: “Вища школа”.- 1994.- 158 с.

24 chick embryos // Nakazawa M., Miyagawa S., Takao A. et al. / *Pediatr. Res.*- 1986.- Vol.20, №12.- P.1213-1225.

Alcohol and congenital heart defects: an experimental study in mice / Webster W., Germain M., Lipson A. et al. // *Cardiovasc. Res.*- 1984.- Vol.18, №6.- P.335-338.

Anderson R., Wenink A. Thoughts on concepts of developmental of the heart in relation to the morphology of congenital malformation // *Experientia.*- 1988.- №11.- P.951-960.

Cardiac outflow tract septation process in the

mouse model of transposition of the great arteries / Yasui H., Nakazawa M., Morishima M., Aikawa E. // *Teratology.*-1997.- Vol.55, №6.- P.353-363.

Cardiac output distribution in response to hypoxia in the chick embryo in the second half of the incubation time / Mulder A., Golde J., Prinzen F., Blanco C. // *J. Cardiovasc. Pharmacol.*- 1998.- Vol.31, №2.- P.195-202.

Cardiogeratogenic dose of ethanol in the chick embryo results in albumin ethanol concentration comparable to human blood alcohol levels / Bruyere H., Choudhury S., Nelson E., Stith C. // *J. Appl. Toxicol.*- 1994.- Vol.14, №1.- P.33-36.

Chen S., Sulik K. Free radicals and ethanol-induced cytotoxicity in neural crest cells // *Alcohol. Clin. Exp. Res.*- 1996.- Vol.20, №6.- P.1071-1076.

Daft P., Johnston M., Sulik K. Abnormal heart and great vessels development following acute ethanol exposure in mice // *Teratology.*- 1986.- Vol.33, №1.- P.93-104.

Development of the papillary muscles of the mitral valve: morphogenetic background of parachute-like asymmetric mitral valves and other mitral valve anomalies / Oosthoek P., Wenink A., Wisse L., Gittenberger-de Groot A. // *J. of Thorac. and Cardiovasc. Surgery.*- 1998.- Vol.116, №1.- P.36-46.

Diminished growth of atrioventricular cushion tissue in stage 24 retinoic acid-treated chicken embryos / Bouman H., Broekhuizen M., Baasten A. et al. // *Dev. Dyn.*- 1998.- Vol.213, №9.- P.50-58.

Distribution of fibronectin, type I collagen, type IV collagen, and laminin in the cardiac jelly of the mouse embryonic heart with retinoic acid-induced complete transposition of the great arteries / Nakajima Y., Morishima M., Nakazawa M. et al. // *Anat. Rec.*- 1997.- Vol.249, №12.- P.478-485.

Effects of environmental hyperthermia on cardiovascular function in the rat embryo / Nakazawa M., Miyagawa S., Morishima M. et al. // *Pediatr. Res.*- 1991.- Vol.30, №6.- P.505-508.

Ethyl alcohol-induced cardiovascular malformations in the chick embryo / Fang T., Bruyere H., Kargas S. et al. // *Teratology.*- 1987.- Vol.35, №1.- P.95-103.

Hyperthermia in the chick embryo: HSP and possible mechanisms of developmental defects / Buckiova D., Kubinova L., Soukup A. et al. // *Dev. Biol.*- 1998.- Vol.42, №5.- P.737-740.

In vivo assessment of embryonic cardiovascular dimensions and function in day-10.5 to -14.5 mouse embryos / Keller B., MacLennan M., Tinney J., Yoshigi M. // *Circ. Res.*- 1996.- Vol.79, №2.- P.247-255.

Khloponin PA. Fluorescence and electron-microscopic analysis of differentiation of the myocytes of the ventricles and atria of the avian heart in ontogenesis // *Pflugers. Arch.*- 1976.- Vol.365, №2-3.- P.159-166.

Kirby M., Waldo K. Neural crest and cardiovascular patterning // *Circ. Res.*- 1995.- Vol.77, №7.- P.211-215.

Morphological observations on the pathogenetic process of transposition of the great arteries induced by

retinoic acid in mice / Yasui H., Nakazawa M., Morishima M. et al. // *Circulation*.- 1995.- Vol.91, №9.- P.2478-2486.

Randall C., Taylor J., Walker D. Ethanol-induced malformations in mice // *Alcohol. Clin. Exp. Res.*- 1977.- №3.- P.219-224.

Richards M., Stock M., Metcalfe J. Effects of brief hypoxia and hyperoxia on tissue trace element levels in the developing chick embryo // *Free Radic. Biol. Med.*- 1990.- Vol.8, №4.- P.313-318.

Upfold J., Smith M., Edwards M. Interference

with neural crest migration by maternal hyperthermia as a cause of embryonic death due to heart failure / *Med. Hypotheses*.- 1991.- Vol.35, №3.- P.244-246.

Uphoff C., Nyquist-Battie C., Toth R. Cardiac muscle development in mice exposed to ethanol in utero // *Teratology*.- 1984.- Vol.30, №1.- P.119-129.

Van Golde J., Mulder T., Blanco C. Changes in mean chorioallantoic artery blood flow and heart rate produced by hypoxia in the developing chick embryo // *Magnes. Trace Elem.* -1991-92.- Vol.10, №5-6.- P.305-320.

Козлов В.А., Шаторная В.Ф., Машталир М.А. Нормальный кардиогенез и влияние некоторых тератогенных факторов на развитие сердца.

Резюме. Проведен анализ и сопоставление результатов экспериментальных исследований сотрудников кафедры и данных литературы относительно этапов кардиогенеза в норме и при формировании пороков развития сердца под влиянием гипертермии, гипоксии, этанола и ретиноевой кислоты. Обобщение результатов влияния тератогенных факторов на развитие сердца показало, что чаще всего встречается общая задержка развития зародыша на несколько стадий, нарушаются сроки формирования межпредсердной и межжелудочковой перегородок, не происходит своевременного закрытия межжелудочкового отверстия, сердечная стенка в предсердных и желудочковых камерах и эндокардиальные подушки эмбрионального сердца развиваются аномально. У большинства зародышей нарушения этих основных процессов кардиогенеза приводило к аномальному развитию предсердно-желудочковых клапанов, клапанов аорты и легочного ствола. Мы также наблюдали спектр пороков сердца, которые включали дефект межжелудочковой перегородки, дэкстрапозицию аорты, двойной выпускник правого желудочка, полную транспозицию магистральных сосудов. Полученные данные свидетельствуют об участии нервного гребня в формировании пороков развития сердца. Среди пороков развития целого эмбриона наблюдалось нарушения флексии и торсии, нарушения развития краниального отдела зародыша, а также встречались сердечная эктопия и пупочная грыжа.

Ключевые слова: сердце, эмбриональное развитие, гипоксия, гипертермия, этанол, ретиноевая кислота, порок развития.