

**Ю.В.Сілкіна**

Дніпропетровська державна медична академія

УДК 616.12:611.018.835:611.89:611.013.395

## **ЕТАПНІСТЬ ГІСТОГЕНЕТИЧНИХ ПЕРЕТВОРЕНЬ ПЕРЕДСЕРДНО-ШЛУНОЧКОВОГО ПУЧКА В ЕМБРІОНАЛЬНОМУ СЕРЦІ ЛЮДИНИ**

*Дослідження проведено у рамках науково-дослідної роботи „Аналіз нормального й аномального гістогенезу тканинних компонентів серцево-судинної системи людини та експериментальних тварин” (номер державної реєстрації 0105U007837).*

**Ключові слова:** передсердно-шлуночковий пучок, провідна система, ембріональне серце.

**Резюме.** Метою дослідження було вивчення основних характеристик гістогенетичних процесів в передсердно-шлуночковому пучку та його ніжках з визначенням етапів цього процесу а також виявленням зв'язку з морфогенезом серця. Дослідження серця ембріонів (4-8 тижнів) та плодів (9-12 тижнів) людини. Застосовували антитіла до нейрофіламентів (NF), гладком'язового актину ( $\alpha$ -SMA), до важких ланцюгів альфаміозина (MSA), neuregulin. Встановлено, що утворення зачатків та подальша диференціація передсердно-шлуночкового пучка тісно пов'язані з процесами септації. На 5 тижні ембріонального розвитку утворюється проксимальний і дистальний зачатки пучка, які зливаються на 7 тижні, утворюючи єдиний тракт. На ранніх етапах та в майбутньому пучок має морфо-функціональний зв'язок з волокнами фіброзного кільця, а також септальними стулками атріо-вентрикулярних клапанів. Утворення ніжок пучка відбувається в 2 етапи, які включають первинне (кустоподібне) розростання та оформлення розростань в праву та ліву ніжки. Медіальна частина первинних розростань частково має тяжи провідних клітин, що сліпо закінчуються. Утворення передсердно-шлуночкового пучка відбувається з клітин позасерцевого походження. Після 12 тижня процеси гістогенезу пучка продовжуються.

**Морфологія.** – 2009. – Т. III, № 3. – С. 108-115.

© Ю.В.Сілкіна, 2009

*Надійшла:* 22.07.2009

*Прийнята:* 27.08.2009

**Silkina Yu.V. The stages of atrioventricular bundle formation in the human embryonic heart.**

**Summary.** The origin, stages and histogenetic processes in atrioventricular bundle were investigated. We studied the human embryonic heart from 5 to 12 week of development. Antibodies to neurofilaments, Ki-67, MSA,  $\alpha$ -SMA and neuregulin were used. Formation of the primordia of the atrioventricular bundle depends on the chamber formation in early heart. The first morphologic reconstruction in the atrioventricular bundle starts from 5 week of gestational age. In this time we studied proximal and distal primordias, which formed general tract at 7 week. The early human heart was characterized by strong connections with atrioventricular fibrous tissue, left and right septal cusps of mitral and tricuspidal valves. Formation of the atrioventricular bundle branches has two stages: primary and repeated growth. Median fibers are blind-ended. We suppose that atrioventricular bundle and bundle branches have extracardiac origin. Histogenesis of the atrioventricular bundle continues after 12 week of human development.

**Key words:** atrioventricular bundle, conduction system, embryonic heart.

### **Вступ**

Для забезпечення автономного скорочувального режиму серцю необхідна чітко спланована система проведення електричного імпульсу від передсердь до шлуночків. Для формування провідного тракту між центральною та периферійною ланками кондуктивної системи однією з головних умов є архітектурно злагоджений морфогенез міжпередсердної та міжшлуночкової перегородок з утворенням так званої хрестовини серця. Оскільки єдиною структурою, яка у нормі поєднує передсердну та шлуночкову ланки провідної системи є передсердно-шлуночковий пучок (ПШП), що знаходиться у ділянці хрестови-

ни, – зв'язок процесу септації з гістогенезом ПШП є очевидним і потребує ретельного вивчення.

Передсердно-шлуночковий пучок за топографо-анатомічними характеристиками складається з декількох частин: передсердної частини (від передсердно-шлуночкового вузла до фіброзної тканини передсердно-шлуночкової борозни), пенетруючої частини (знаходиться всередині фіброзної тканини) та шлуночкової частини, яка розгалужується на праву та ліву ніжки. Питання розвитку пучка на сьогодні вивчені в анатомічному, гістологічному аспектах, але дослідження проводилися, у більшості, на серцях курей, ми-

шей, кролів та інших хребетних. У серці ж людини добре вивчені характеристики лише зрілої провідної системи, а дані стосовно ембріонального серця є малочисельними, можливо з причини складності отримання матеріалу а також ідентифікації клітин-попередників провідних кардіоміоцитів, які дещо відрізняються від кондуктивних клітин у інших хребетних.

Висновки вчених відносно морфогенезу частин ПШП у цілому збігаються, але дані щодо їхнього походження неоднозначні. Відомо, що зачаток пучка утворюється з клітин примітивного атріо-вентрикулярного каналу (ABK) у вигляді єдиного провідного стовбура, який об'єднує примордій передсердно-шлуночкового вузла (ПШВ) та однойменного пучка (Gourdie R. et al., 2003). Вентрикулярна ж частина пучка Гіса (його ніжки) формується з клітин первинного міжшлуночкового отвору (МШО). Існує думка, що і клітини міокарда ABK, і клітини МШО є дериватами нервового гребеня (НГ) (Садлер Т., 2001). Однак деякі автори (Nakamura T. et al., 2006) при вивченні розвитку провідної системи курей зазначають, що клітини НГ не є джерелом клітин провідної системи для ПШП та його браншей, а лише виконують регуляторну роль у процесах специфічного диференціювання кардіоміоцитів із загального пулу.

У літературі прийнято між поняттями «розгалуження пучка Гіса» та «волокна Пуркінє» ставити знак рівняння. Але у ході нашого дослідження виявилось, що клітини пучка і його ніжок та клітини волокон Пуркінє є різні за механізмами реалізації гістогенетичних процесів. Така думка зустрічається і в інших дослідженнях (Павлович Е.Р., 1997). Тому ми вирішили присвятити питанням гістогенезу клітин волокон Пуркінє окремий огляд. У представленій роботі описані дослідження гісто- та морфогенезу тільки передсердно-шлуночкового пучка та його ніжок.

Отже, **метою нашого дослідження** було вивчення основних характеристик гістогенетичних процесів у передсердно-шлуночковому пучку та його ніжках протягом раннього кардіогенезу з визначенням етапності та зв'язку із морфогенезом серця.

#### **Матеріали та методи**

Були вивчені серця ембріонів та плодів людини на різних строках гестації (від 4 до 12 тижнів). Матеріал збирали на базі гінекологічних відділень та абортаріїв м. Дніпропетровська. При дослідженні біологічного матеріалу були дотримані етичні та законодавчі норми та вимоги, які пред'являються до наукових морфологічних досліджень органів людини (Кулініченко В.Л. та співав., 2007). Для аналізу структури серця був використаний комплексний підхід, який включав використання гістологічних, імуногістохімічних та статистичних методів оцінки. При проведенні

імуногістохімічного етапу дослідження тканини була використана панель антитіл, яка включала: антитіла до білків триплету нейрофіламентів (Neurofilament 200kDa & 68kDa (NF) (LabVision), антитіла до альфа-гладком'язового актину ( $\alpha$ -SMA) (DakoCytomation), антитіла до важкого ланцюга альфа-міозину (MSA) (LabVision) та до neuregulin (LabVision). Матеріал фіксували у нейтральному 10% забуференому формаліні. Зрізи товщиною 4-5 мкм наносили на скло, оброблене адгезійною рідиною. Демаскування антигенів проводили за допомогою підігріву зрізів у цитратному буфері з pH=6,0 шляхом автоклавування протягом 10 хвилин до досягнення температури 121°C при тиску 1 атм. Після видалення первинних антитіл використовували систему візуалізації LSAB2 та EnVision (DakoCytomation, LabVision) (біотинільовані антитіла та пероксидазний комплекс), а в якості хромогена використовували DAB (діамінобензидин). Після імуногістохімічних реакцій зрізи додатково забарвлювалися гематоксиліном Майєра. Ступінь експресії саркоплазматичних (NF,  $\alpha$ -SMA, MSA, neuregulin) маркерів визначали шляхом оцінки інтенсивності реакції.

#### **Результати та їх обговорення**

На 5 тижні ембріонального розвитку у серці людини спостерігалася зона високої експресії протеїну, який, за даними літератури, характерний для клітин провідної системи –  $\alpha$ -гладком'язового актину ( $\alpha$ -SMA) (Franco D., Icardo J., 2001) (рис. 1). Вона охоплювала міокард вільних стінок передсердь (більше справа), дорсальну стінку атріо-вентрикулярного каналу, складки, які формують передсердно-шлуночкову борозну, стінки конотрункусу, клітини області первинного міжшлуночкового отвору, а також люмінальні трабекули (більше лівого шлуночка). Означена область топографічно відповідала зоні формування так званої хрестовини серця та прилеглих до неї ділянок, яка у більш розвинутому серці функціонально, структурно та архітектурно виконує роль вузла зв'язку між передсердями та шлуночками. Передсердно-шлуночкова ланка провідної системи також локалізується у зоні хрестовини.

У зазначений термін ми спостерігали структуру, утворену щільно упакованими клітинами, ядра яких характеризувалися вираженою базофілією при рутинному забарвленні. Топографічно ця структура знаходилася на дорсальній поверхні ембріонального серця в області стінки загального атріо-вентрикулярного каналу. Клітини, які формували означене угруповання, мали різні імуногістохімічні властивості. Приблизно третина цих клітин була  $\alpha$ -SMA-позитивною з високим рівнем експресії і характеризувалися перинуклеарною локалізацією маркеру. Ці клітини утворювали скупчення, були пов'язані між собою та утворювали подовжений тяж.

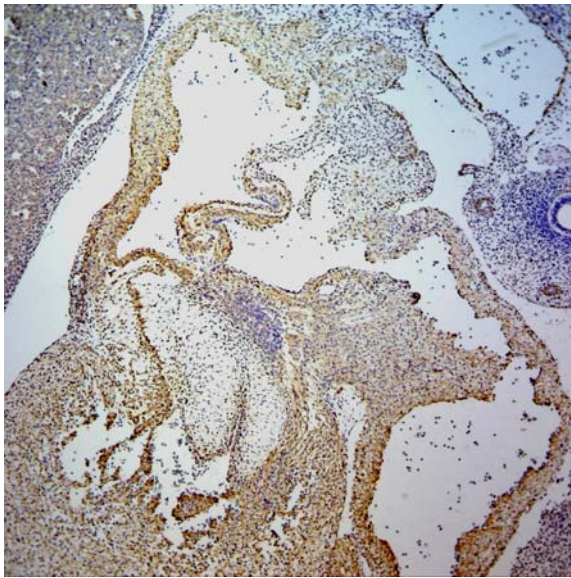


Рис. 1. Серце людини на 5 тижні ембріонального розвитку. Тканина оброблена антитілами до  $\alpha$ -SMA. Позитивні ділянки забарвлені у коричневий колір.  $\times 100$ .

При вивченні природи клітин описано локалізації використання антитіл до MSA дозволило встановити, що окрім  $\alpha$ -SMA вони були і MSA-позитивними, тобто мали ознаки міофібрилогенезу. Але частина клітин зони, що досліджувалася, була MSA-негативною і розташовувалася зверху тяж м'язових клітин, ніби вкриваючи його. Нижню поверхню утворювала пухка мезенхіма ендокардіальних подушок. Таким чином ми спостерігали нашарування клітин з різними структурними та імуногістохімічними характеристиками. Це підтверджує дослідження іншої групи науковців (Chadwick D., Goode J., 2003), які свідчать, що сполучна тканина передсердно-шлуночкової борозни, яка розміщена з епікардіального боку, та ендокардіальні подушки, розташовані з ендокардіального боку, разом із провідною тканиною утворюють «сэндвич», який зберігається і надалі та спостерігається навіть у дифінітивному серці.

При аналізі розподілення антитіл до нейрофіламентів у зоні формування передсердно-шлуночкового провідного стовбура ми не встановили факту присутності клітин з властивостями експресії маркера на 5 тижні. Але сказати, що вивчена зона є абсолютно NF-негативною ми також не можемо – у деяких місцях спостерігалися окремі крапкоподібні нервові волокна, які розповсюджувалися з боку епікарду (контролем рівня експресії і приналежності вказаних структур саме до нервових волокон слугували нерви та ганглії прилеглого до серця органоккомплексу). Вони були малопомітні і виявлялися лише при великому збільшенні мікроскопа ( $\times 1000$ ).

Neuregulin виявлявся на високому рівні у нижній частині конотрункуса, стінках АВК, в

люмінальних трабекулах обох шлуночків та ендотелії, який вкривав ендокардіальні подушки. Цей протеїн є фактором ендокардіального походження, який сприяє, у тому числі, формуванню провідної системи серця шляхом паракринної регуляції процесів у мікросередовищі, яке оточує кондуктивні клітини. Дослідження на мишах з використанням методу виключення гену, що відповідає за експресію *neuregulin*, показали виражене порушення формування трабекулярного міокарда та системи волокон Пуркіньє (Milan D. et al., 2005).

При дослідженні гребеня міжшлуночкової перегородки встановлено, що клітини, розміщені в цій зоні, були NF-негативними, нервових волокон не спостерігалось. У центральній частині гребеня, а також з боку право- та лівошлуночкової поверхонь МШП містилася незначна кількість  $\alpha$ -SMA-MSA-позитивних клітин, які утворювали короткі тяжі.

Відомо, що на ранніх етапах розвитку серця частина передсердно-шлуночкового пучка утворюється у складі провідного стовбура, розташованого у ділянці дорсальної стінки первинного атріо-вентрикулярного каналу, а інша його частина входить до складу МШП, що зростає у напрямку ендокардіальних подушок, які мають тенденцію до злиття і знаходяться з люмінального боку провідного стовбура. Є дані, які підтверджують участь ендокардіальних подушок у формуванні ПШП та його ніжок, бо вони є джерелом клітин екстракардіального походження (з нервового гребеня) (Садлер Т., 2001). Клітини НГ, які спостерігаються у складі конотрункуса, у результаті епітеліо-мезенхімної трансформації формують зону ущільненої мезенхіми і вона, за результатами наших досліджень, є  $\alpha$ -SMA-позитивною, але NF-негативною. Схожу ділянку, утворену мезенхімними клітинами із зазначеними імуногістохімічними характеристиками, ми спостерігали у складі дорсальної стінки АВК. Ми не виключаємо, що клітини обох описаних ділянок мають спільне походження, однак різні шляхи диференціювання – у сполучну тканину артеріального стовбура та у м'язові клітини провідної системи атріо-вентрикулярного з'єднання.

На 6 тижні гестації чітко візуалізувалася вже сформована хрестовина серця, вертикальну перекладину якої формували передсердна та міжшлуночкова перегородки, а горизонтальну – передсердно-шлуночкове мезенхімне розмежування, утворене ендокардіальними подушками, що злилися. На нашу думку, саме ця просторова конфігурація стабілізує область формування передсердно-шлуночкового провідного тракту.

У передсердній зоні ПШП, а саме у перехідній зоні пучка та передсердно-шлуночкового вузла, спостерігалися нервові волокна (рис. 2А). На цьому етапі кардіогенезу ділянка мезенхіми в зоні атріо-вентрикулярної борозни складалася з



клітин, які різко позитивно мітилися антитілами до  $\alpha$ -SMA. Вони формували волокна і складали основну частину тканини, яка структурно відмежовувала передсердя від шлуночків. Окрім цієї ділянки подібний рівень експресії  $\alpha$ -SMA спостерігався у стінках передсердь (більше справа), у базальній частині міжшлуночкової перегородки, на люмінальній поверхні септальних стулок атріовентрикулярних клапанів, що формуються, а також в клітинах трабекул шлуночків (рис. 2Б).

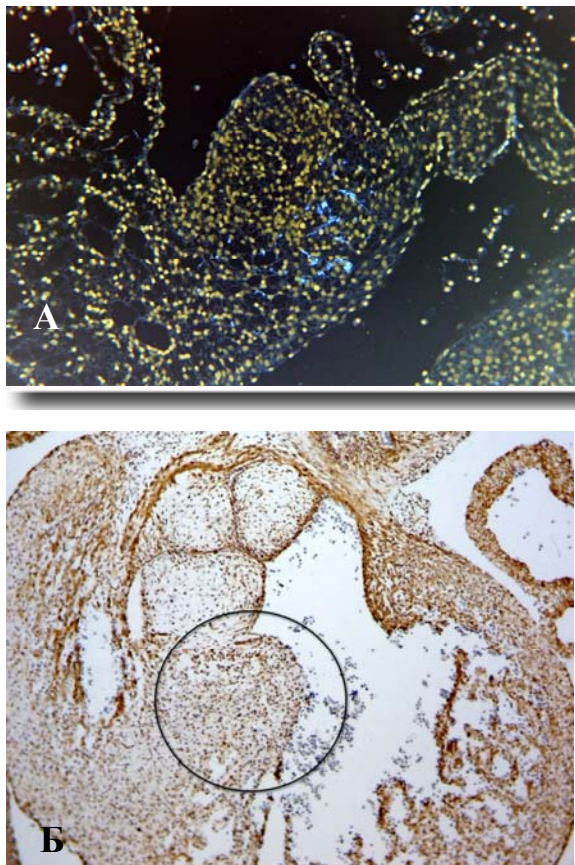


Рис. 2. Серце людини на 6 тижні пренатального розвитку: А – синім кольором забарвлені нервові волокна у зоні формування передсердної частини ПШП, тканина оброблена NF,  $\times 400$ ; Б – вентрикулярний примордій ПШП, тканина оброблена  $\alpha$ -SMA,  $\times 200$ . Лінією окреслена область зростаючої міжшлуночкової перегородки.

Примордій передсердно-шлуночкового вузла розташований дуже близько до атріовентрикулярного розмежування, а тому віддиференціювати межу вузла та проксимального зачатку майбутнього пучка на цьому етапі складно. Каудальна частина проксимального зачатку на 6 тижні нерозривно пов'язана із волокнами, сформованими  $\alpha$ -SMA-позитивними клітинами, які входять до складу атріо-вентрикулярної розмежувальної мезенхіми. Під останньою одразу виявлявся шар пухкої мезенхіми. У зазначеній ділянці ми не знайшли пучків провідної тканини, що якимось чином об'єднували б проксимальний

та дистальний зачатки. Отже на цьому етапі вони ще є окремими частинами.

Під мезенхімною ділянкою міжшлуночкової перегородки спостерігалось розгалуження дистального зачатку: при дослідженні на сагітально зорієнтованих зрізах тяжі  $\alpha$ -SMA-позитивних клітин кущеподібно розходилися по базальному краю м'язової частини МШП.

При аналізі розподілення антитіл до нейрофіламентів виявилось, що вони локалізувалися у тих самих зонах, що і  $\alpha$ -SMA-позитивна тканина, тобто у зоні проксимального та дистального зачатків. Однак ступінь та характер експресії маркера мав певні особливості. По-перше, порівняно з нервовими волокнами рівень експресії тут був незначний; по-друге, маркер розподілявся не у міжклітинному просторі, а у цитоплазмі м'язових клітин; по-третє, характер експресії був у вигляді посмугованості, тобто, скоріше за все, мала місце коекспресія субодиниць нейрофіламентів та міофіламентів, що узгоджується з даними Т.Аlyonysheva et al. (1997), які вказали на те, що у клітинах провідної системи відбувається коекспресія нейрональних та скелетних м'язових білків. Ми не спостерігали NF-позитивних клітин у примордії ПШВ, але виявляли їх у трабекулярному шарі міокарда шлуночків, які майже повністю складався з описаних кардіоміоцитів.

7 тижень характеризувався ущільненням мезенхіми в базальній частині МШП та об'єднанням проксимального і дистального зачатків в одне ціле. На наше переконання, тільки починаючи з означеного терміну, на якому вже є можливість об'єднання двох зачатків в один тракт і початок їх загального морфофункціонального диференціювання, слід вживати термін «передсердно-шлуночковий пучок» (рис. 3).

У означений період спостерігалася несиметричність диференціювання проксимальної та дистальної частин ПШП – перша структурно була пов'язана із передсердно-шлуночковим вузлом і тут відбувалося активне формування нервового сплетення; процеси вrostання нервових волокон ініціювали ущільнення та початок активного диференціювання клітин провідної системи. В області дистальної (шлуночкової) частини вузла ми не спостерігали на цьому етапі присутності нервових волокон.

Характеристика розподілення  $\alpha$ -SMA-позитивних клітин, порівняно з попереднім описаним строком, мало відрізнялася. Слід лише зазначити, що різко позитивними тепер виявлялися також люмінальні поверхні септальних стулок атріо-вентрикулярних клапанів.

На 8 тижні ембріонального розвитку людини ми спостерігали  $\alpha$ -SMA-позитивні тяжі, які мали безперервний хід від зони вузла, через ущільнену мезенхіму атріо-вентрикулярної борозни, мезенхімну частину МШП та розгалужувалися у

м'язовій частині МШП і мали наступний вигляд: по правошлуночкової частині МШП спостерігалася ущільнена група  $\alpha$ -SMA-позитивних клітин, які формували чіткий тяж, який трохи нижче розгалужувався незначно; в апікальній частині МШП по правому боку теж спостерігалися маркер-позитивні клітини, але вони не мали чіткого сполучання із верхньою групою клітин. Лівошлуночкова поверхня містила окремі розрізнені  $\alpha$ -SMA-позитивні клітини, які куцеподібно розгалужувалися у товщі МШП. Також спостерігалися тяжі клітин і у нижній частині лівошлуночкової поверхні, у якій чітко просліджувався зв'язок з верхніми клітинами. Розташовувалися описані тяжі як субендокардіально, так і в глибоких частинах МШП. Вищевикладене може свідчити про те, що розповсюдження тяжів провідних клітин по лівому боку МШП відбувається більш менш лінійно, а міграційні шляхи  $\alpha$ -SMA-позитивних клітин справа мають кутову траєкторію, що і виявляється на зрізах відсутністю явного зв'язку між проксимальними та дистальними тяжами.

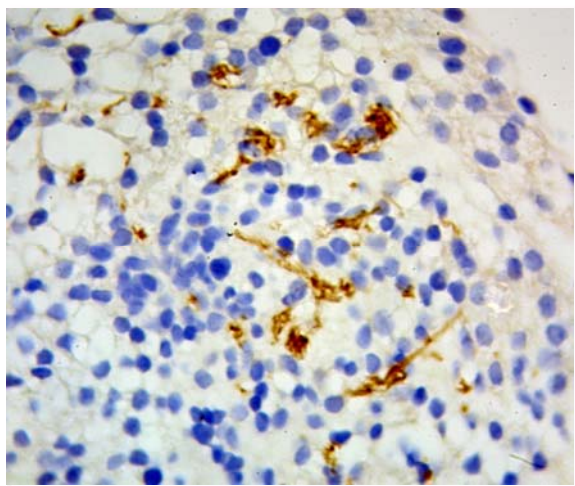


Рис. 3. Серце людини на 7 тижні ембріонального розвитку. Насиченим кольором виявляються NF-позитивні ділянки,  $\times 400$ .

У цей період спостерігалася тенденція до зниження рівня експресії  $\alpha$ -SMA в трабекулах. Тільки люмінальні трабекули, які наближені до передсердно-шлуночкових каналів та до відповідних поверхонь МШП, на високому рівні експресували маркер.

У складі лівої та правої шлуночкових поверхонь МШП на 8 тижні гестації спостерігалася поява клітин, які містили NF-позитивні ділянки, але зі специфічним характером експресії: у поодиноких NF-позитивних клітинах маркер розподілявся гомогенно по всій цитоплазмі. Наряду з тим виявлялися ділянки, сформовані волокнами кардіоміоцитів з NF-позитивною посмугованістю. Нервові волокна у структурі МШП зустріча-

лися у незначній кількості, але спостерігалися навіть у складі люмінальних трабекул між пухко розташованими міоцитами.

Субендокардіально розташовані клітини з гомогенним характером експресії NF, на нашу думку, є клітинами Пуркінє. Але на сьогодні ми не можемо дати відповідь на питання – чи є вони результатом міграції або результатом нейрогенно-залежного диференціювання із загального пулу кардіоміоцитів.

При дослідженні у фронтальній проекції дистальної частини ПШП можна спостерігати, що розгалуження пучка йдуть по відношенню до вісі МШП вправо та вліво, переходячи безпосередньо у люмінальні трабекули шлуночків. Медіальні розгалуження мають куцеподібний вигляд, описаний раніше.

На 9 тижні пренатального розвитку людини проксимальна частина передсердно-шлуночкового пучка містила більше нервових волокон ніж дистальна. Нервові волокна вузла та пучка чітко взаємопов'язані через сполучення у фіброзній тканині. Таким чином, посилені інервація спостерігалася у зоні передсердно-шлуночкового вузла, проксимальній частині пучка, у центральній ділянці фіброзної тканини, яка знаходилася між МШП та МПП, а також у краніальній м'язовій частині МШП. Якщо через означені ділянки умовно провести лінію, вона буде мати хід зверху-вниз справа-наліво, вказуючи напрям розповсюдження передсердно-шлуночкових провідних шляхів. Якщо взяти до уваги матеріали дослідження D.Sanchez-Quintana et al. (1990), які вказують на те, що провідні шляхи завжди формують кільце у складі фіброзної тканини мітрального клапану і лише частково у складі кільця трикуспідального клапану, а також враховуючи результати нашого дослідження про хід нервових волокон від передсердної перегородки у напрямку шлуночкової, стане зрозумілим, що вони мають вплив на вторинну організацію шляхів провідної системи у складі передсердно-шлуночкового пучка, не приймаючи при цьому участь у процесах їх первинного розповсюдження. Ми припускаємо, що утворення сліпих розгалужень відбувається саме там, де кількість нервових волокон є незначною, або вони взагалі відсутні.

Результати наших спостережень підтверджують дані M.Suárez-Mier і B.Aguilera (1998), які спростували більш ранні уявлення про напрям ходу волокон правої ніжки як прямого продовження пучка Гіса (Новиков И.И., 1975; Anderson R. et al., 1976) і засвідчили, що у новонароджених прямим продовженням проксимальної частини передсердно-шлуночкового пучка є «тупиковий тракт», який сліпо закінчується у фіброзному тілі. На наш погляд, орієнтація пучка відповідає напрямку повздовжньої вісі серця – справа-наліво, зверху-вниз.



$\alpha$ -SMA-позитивні зони у серці плодів людини на 9 тижні розвитку мали наступну топографічну характеристику: люмінальні трабекули шлуночків залишалися маркер-позитивними, але мали менший ступінь експресії, ніж на попередніх строках. Різко позитивними були септальні стулки атріо-ventрикулярних клапанів. Виявлення взаємного впливу провідної системи, що формується, на розвиток атріо-ventрикулярних клапанів потребує окремого дослідження, тому у цій роботі дані щодо реалізації гістогенетичних процесів кондуктивних клітин на території клапанів не представлені.

Зона фіброзної тканини в області передсердно-шлуночкової межі залишалася маркер-позитивною, але клітини містилися з меншою інтенсивністю. Зона високої експресії  $\alpha$ -SMA виявляється в області кільця мітрального клапану, а також біля правого атріо-ventрикулярного клапану. У МШП  $\alpha$ -SMA-позитивні тяжі спостерігалися на право- та лівошлуночковій поверхнях, однак остання містила більшу довжину подібних тяжів. Специфічним залишалося медіальне розгалуження пучка у базальній частині МШП: тут спостерігалася значна кількість тяжів клітин провідної системи, які кущеподібно розходилися, але вони не мали сполучань із правошлуночковими та лівошлуночковими тяжами, а закінчувалися сліпо (рис. 4). Таке розгалуження центральної частини спостерігалось нами дуже чітко у всіх досліджуваних серцях, починаючи з 7 тижня гестації.

Клітини, що експресували NF, спостерігалися у тих же зонах, де містилися і  $\alpha$ -SMA-позитивні клітини. Характер експресії у вигляді посмугованості зберігався. Виявлялося, що тяжі посмугованості переходили із однієї клітини в іншу не перериваючись. Судячи із стрімкої швидкості появи таких волокон, а також ступеня взаємозв'язку між подібними клітинами, ми вважаємо, що утворені вони шляхом залучення кардіоміоцитів із загального пулу з подальшим набуттям властивості коекспресії нейральних та м'язових білків, а не є дериватами НГ. Але поява зазначених шляхів проведення випереджає утворення ventрикулярної частини передсердно-шлуночкового пучка, тому, на наш погляд, описані шляхи є первинними в умовах відсутності сформованої провідної системи, а утворення дефінітивного пучка відбувається альтернативно з клітин, які мають походження з АВК та первинного МШО.

На означеному терміні дистальна частина передсердно-шлуночкового пучка не відмежована від оточуючого міокарда. У цьому наші спостереження не збігаються з даними інших авторів (Новиков І.І., 1975), які стверджують, що вже на 7 тижні розвитку пучок чітко виражений, відмежований від оточуючих кардіоміоцитів клітинами сполучної тканини.

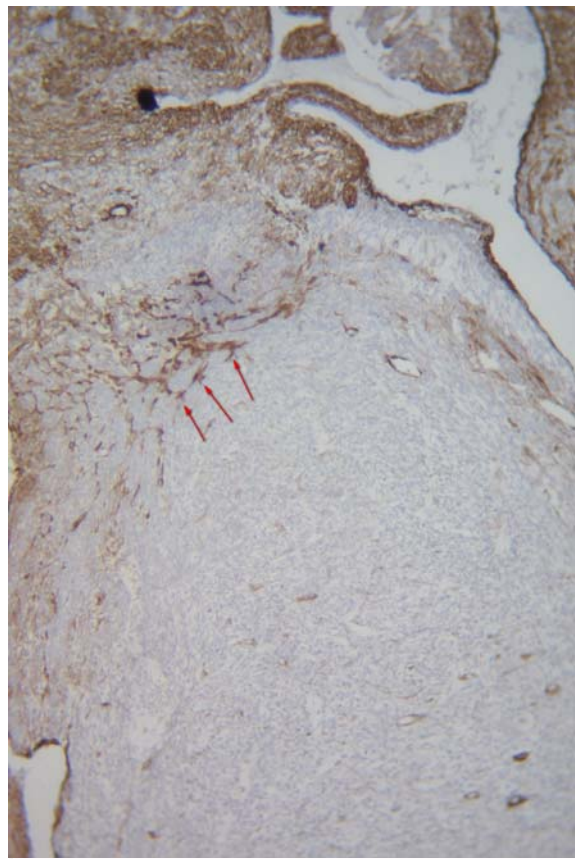


Рис. 4. Серце людини на 10 тижні ембріонального розвитку. Стрілками вказані медіальні розгалуження, що мають сліпий хід,  $\times 100$ .

11 тиждень пренатального розвитку людини характеризувався чітким відмежуванням від оточуючого міокарда  $\alpha$ -SMA-позитивних тяжів клітин у базальній частині МШП. Вони мали низхідний напрямок вздовж шлуночкової поверхні МШП. Навколо оформлених тяжів спостерігалися клітини сполучної тканини, які формували сполучнотканинну капсулу, яка, однак, була слабо вираженою.

При аналізі розподілення антитіл до субодиниць нейрофіламентів виявилось, що високий рівень експресії спостерігався лише у нервових волокнах, які представлені в зоні передсердно-шлуночкового пучка у великій кількості. Експресія нейральних білків спостерігалася і у кардіоміоцитах з незмінним її характером, які локалізувалися в основі та стулках передсердно-шлуночкових клапанів, зоні фіброзного тіла, у трабекулярному міокарді шлуночків. Тяжі, сформовані кардіоміоцитами з описаними властивостями, мали безперервний хід від зони передсердно-шлуночкового вузла до люмінальних трабекул шлуночків.

Таким чином, кардіоміоцити, які у ранньому серці утворюють провідні шляхи від зони передсердно-шлуночкового вузла і до ventрикулярно-

го міокарда, мають схожі властивості щодо експресії білків нейрофіламентів. Паралельно з описаними шляхами продовжують формуватися інші, які мають ярко виражену тропність до анти- $\alpha$ -SMA антитіл, про що було вже сказано вище.

12 тиждень пренатального розвитку людини характеризувався продовженням процесів заглиблення у товщу міокарда МШП ніжок пучка, збільшенням їх розгалужень. Рівень накопичення NF клітинами, що характеризувалися коекспресією нейральних та м'язових білків у цитоплазмі, у цей термін зберігався.

Отже, на максимальному досліджуваному нами строку процеси формування ніжок пучка Гіса ще не завершені, при цьому вивчення процесів формування дистальної частини протягом 5-12 тижнів дозволило встановити, що первинним є утворення значної кількості розгалужень дистального зачатку, які є результатом процесу дисемінації  $\alpha$ -SMA-клітин вглиб МШП. Після об'єднання проксимального та дистального зачатків в єдине ціле домінуючими зонами розповсюдження стають латеральні право- та лівошлуночкова поверхні МШП, на території яких утворюються права та ліва ніжки передсердно-шлуночкового пучка. Медіальні первинні розгалуження частково входять до складу ніжок, частково залишаються самостійними, маючи при цьому сліпий кінець. Це підтверджує дані R.Gourdie et al. (2003), які свідчать, що у зрілому серці у передній частині верхівки міжшлуночкової перегородки знайдені сліпі тракти, які є залишками кондуктивної системи.

Таким чином, формування передсердно-шлуночкового пучка та його ніжок відбувається у наступній послідовності:

1. Утворення двох окремих зачатків (проксимального та дистального), розташованих, відповідно, у передсердній та шлуночковій частинах раннього серця людини.
2. Утворення єдиного пучка шляхом злиття зачатків.
3. Формування тяжів провідних клітин на території базальної частини МШП з подальшим утворенням правої та лівої ніжок із залишками

медіальних розгалужень, що мають сліпий хід. Формування лівої ніжки випереджає за строками формування правої.

4. Утворення сполучнотканинної капсули ніжок передсердно-шлуночкового вузла.

5. Диференціювання клітин у складі пучка та набуття ними дефінітивного стану.

#### **Висновки**

1. Гістогенез передсердно-шлуночкового пучка тісно пов'язаний із макро- та мікроструктурними перебудовами області атріо-вентрикулярного з'єднання.

2. Формування проксимального та дистального зачатків передсердно-шлуночкового пучка відбувається на 5 тижні гестації: перший входить до складу провідного стовбура, другий розташований у зоні м'язового гребеня МШП.

3. Утворення єдиного пучка відбувається на 7 тижні шляхом злиття двох зачатків.

4. Передсердно-шлуночковий пучок протягом 6-12 тижнів пренатального розвитку людини структурно пов'язаний із тяжами клітин провідної системи у зоні фіброзних кілець передсердно-шлуночкових клапанів та септальних стулках.

5. Формування розгалужень пучка відбувається у два етапи: 1. Первинне кушеподібне неорієнтоване розгалуження; 2. Спрямовані розростання тяжів провідних кардіоміоцитів. У результаті другого етапу формуються ніжки пучка, первинні розростання частково входять у склад ніжок, частково залишаються сліпими. Ліва ніжка за темпами росту випереджає праву.

6. Утворення дефінітивного передсердно-шлуночкового пучка відбувається з клітин позакардіального походження.

7. Диференціювання провідних кардіоміоцитів до 12 тижня гестації не завершується.

#### **Перспективи подальших досліджень**

Планується вивчення лектингістохімічних характеристик зони формування передсердно-шлуночкового пучка на етапах кардіогенезу людини.

#### **Літературні джерела**

Дотримання етичних та законодавчих вимог при виконанні наукових морфологічних досліджень :методичні рекомендації / [В. Л. Кулініченко, В. Д. Мішалов, Ю. Б. Чайковський та ін.]. - К., 2007. - 29 с.

Новиков И. Нервы и сосуды сердца (эмбриологическое исследование) / И. Новиков. - Минск : Наука и техника, 1975. - 152 с.

Павлович Е. Р. Современные проблемы морфологической науки и образования / Е.Р. Павлович // Морфология. - 1997. - № 10. - С. 84-87.

Садлер Т. Медична ембріологія за Лангманом / Томас Садлер. - Львів : Наутілус, 2001. - 550 с.

Chadwick D. Development of the cardiac conduction system / D. Chadwick, J. Goode. - Novartis Foundation, 2003. - 289 p.

Development of the cardiac pacemaking and conduction system / R. Gourdi, B. Harris, J. Bond [et al.] // Birth. Defects. Res. Embryo Today. - 2003. - Vol. 69, № 1. P. 46-57.

Franco D. Molecular characterization of the

ventricular conduction system in the developing mouse heart: topographical correlation in normal and congenitally malformed hearts / D. Franco, J. Icardo // Cardiovascular Research. – 2001. – Vol. 49, № 2. – P. 417–429.

Nakamura T. Neural crest cells retain multipotential characteristics in the developing valves and label the cardiac conduction system / T. Nakamura, M. Colbert, J. Robbins // Circ. Research. – 2006. – Vol. 98. – P. 1547–1554.

Neuregulin but not endothelin signaling is required for atrioventricular conduction tissue development / D. Milan, A. Giokas, R. Peterson [et al.] // Heart Rhythm. – 2005. – Vol. 2, № 9. – P. 34–42.

Paz Suárez-Mier M. Histopathology of the conduction system in sudden infant death / M. Paz Suárez-Mier, B. Aguilera // Forensic Science International. – 1998. – Vol. 93, № 2. – P. 143–154.

Sanchez-Quintana D. Myocardial fiber architecture in the human heart / D. Sanchez-Quintana, V. Garcia-Martinez, J. Hurler // Acta Anatomica. – 1990. – Vol. 138. – P. 352–358.

Skeletal muscle-specific myosin binding protein-H is expressed in Purkinje fibers of the cardiac conduction system / T. Alyonicheva, L. Cohen-Gould, C. Siewert [et al.] // Circ. Res. – 1997. – Vol. 80. – P. 665–672.

### **Силкина Ю.В. Этапность формирования предсердно-желудочкового пучка в эмбриональном сердце человека.**

**Резюме.** Целью исследования было изучение основных характеристик гистогенетических процессов в предсердно-желудочковом пучке и его ножках с установлением этапов этого процесса, а также выявлением связи с морфогенезом сердца. Исследовали сердца эмбрионов (4-8 недели) и плодов (9-12 недели) человека. Применяли антитела к нейрофиламентам (NF), гладкомышечному актину ( $\alpha$ -SMA), к тяжелой цепи альфа-миозина (MSA), neuregulin. Установлено, что образование зачатков и дальнейшая дифференцировка предсердно-желудочкового пучка тесно взаимосвязаны с процессами септации. На 5 неделе эмбрионального развития образуются проксимальный и дистальный зачатки пучка, которые сливаются на 7 неделе, образуя единый тракт. На ранних этапах и в последующем пучок имеет морфофункциональную связь с волокнами фиброзного кольца, а также септальными створками атрио-вентрикулярных клапанов. Образование ножек пучка происходит в 2 этапа, которые предполагают первичное (кустовидное) разрастание и оформление разрастаний в правую и левую ножки. Медиальная часть первичных разрастаний частично имеет слепо заканчивающиеся тяжи проводящих клеток. Образование предсердно-желудочкового пучка происходит из клеток внесердечного происхождения. После 12 недели процессы гистогенеза пучка продолжают.

**Ключевые слова:** предсердно-желудочковый пучок, проводящая система, эмбриональное сердце.