

УДК: 611.11.013.018: 616.132.2:611.142  
© Потоцька О.Ю., 2011

## ГІСТОГЕНЕЗ ВІНЦЕВИХ СУДИН НА РАННІХ ЕТАПАХ ПРЕНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗУ КУРКИ ТА ЛЮДИНИ

Потоцька О.Ю.

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины»

**Потоцька О.Ю.** Гістогенез вінцевих судин на ранніх етапах пренатального онтогенезу курки та людини // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 4. – С. 70-72.

Метою нашої роботи була характеристика механізмів коронарогенезу та уточнення джерел коронарного ендотелію. В якості матеріалу були використані ембріони курки та людини; були проведені стандартні гістологічні та імуногістохімічні методики. В результаті було продемонстровано, що примітивні коронарні судини спочатку сполучаються з венозним синусом і лише через декілька стадій – з аортою на рівні верхньої межі конусу. Ендотелій коронарних судин походить з епікардіального мезотелію та ендотелію венозного синуса.

**Ключові слова:** коронарні судини, епікард, ендотелій, ембріогенез.

**Потоцкая О.Ю.** Гістогенез коронарних судин на ранніх етапах пренатального онтогенезу курки та людини // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 4. – С. 70-72.

Целью нашей работы была характеристика механизмов коронарогенеза и уточнение источников происхождения коронарного эндотелия. В качестве материала были использованы эмбрионы кур и человека; проводились стандартные гистологические и иммуногистохимические процедуры. В результате было обнаружено, что примитивные коронарные сосуды вначале сообщаются с венозным синусом и только несколькими стадиями позже – с аортой на уровне верхней границы конусного отдела. Эндотелий коронарных сосудов происходит из эпикардального эпителия и эндотелия венозного синуса.

**Ключевые слова:** коронарные сосуды, эпикард, эндотелий, эмбриогенез.

**Pototskaya O.Yu.** Histogenesis of coronary vessels on early stages of prenatal ontogenesis of chick and human embryo // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 4. – С. 70-72.

The purpose of our research was to estimate the mechanisms of coronarogenesis and to clarify sources of coronary endothelium. Chick and human embryos were used as a material; histological, immunocytochemical procedures were performed. It was revealed, that primitive coronary vessels firstly communicate with the sinus venosus and only several stages later they penetrate aorta at the level of the upper boundary of conus. Endothelium of coronary vessels derive from epicardial mesothelium and endothelium of sinus venosus.

**Key words:** coronary vessels, epicardium, endothelium, embryogenesis.

**Вступ.** Іншемічна хвороба серця займає 1-е місце серед причин смерті і складає 12.8% (Інформаційний бюлетень ВОЗ №310, червень 2011 р.). Можливість же регулювати процес утворення коронарних судин в дефінітивному міокарді надасть можливість корекції такої розповсюдженої патології. У серії класичних експериментів було продемонстровано, що розвиток коронарних судин нерозривно пов'язаний з епікардом, зокрема, що епікард виступає донатором таких клітинних популяцій, як кладком'язові, периваскулярні та інтерстиційні фібробласти [4]. У декількох експериментах *in vitro* була прослідкована можливість диференціювання дефінітивного епікардіального мезотелію миші в регіоні інфаркту в гладком'язові клітини, фібробласти [2]. Проте дані у відношенні коронарного ендотелію продовжують залишатись суперечливими, і всі експерименти у напрямку отримання ендотеліальних клітин із зрілого епікарда виявляються марні, що вимагає уточнення джерела походження даної клітинної популяції та конкретизацію механізмів коронарогенезу.

**Мета.** Визначити джерело коронарного ендотелію та механізми коронарогенезу на ранніх етапах пренатального онтогенезу ембріонів курки та людини.

**Матеріали та методи.** Курячі ембріони кросу Cobb 500 отримували з інкубатору ЗАТ

«Ітахокомбінат Дніпровський», м. Нікополь. Ембріони людини отримувалися в межах договору про наукову співпрацю між кафедрою гістології ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України» та Дніпропетровським обласним патологоанатомічним бюро. Проводились стандартні гістологічні процедури; зрізи забарвлювали гематоксинамом та еозином. З імуногістохімічних маркерів були використані антитіла до ендотелію (CD34), цитокератину (pancytoeratin), та проліферації (Ki-67), та система візуалізації EnVision (LabVision). Тривимірні моделі створювали за рекомендаціями Твердохліба І.В. [1].

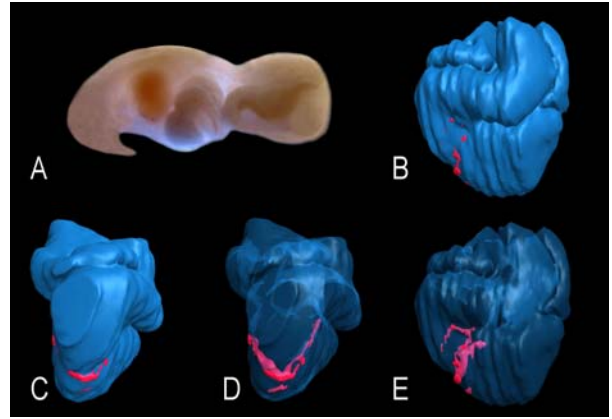
**Результати та їх обговорення.** Оскільки одним з найбільш досліджених об'єктів розвитку вінцевих судин є курячі ембріони, саме їх ми використали в якості матеріалу для дослідження. На 20-й стадії розвитку за Hamburger та Hamilton, 1951 (далі - НН) спостерігалось перетворення основного джерела епікарда – проепікарда – на вторинний дорзальний мезокард, який сполучав венозний синус (ВС) та дорзальну поверхнюпередсердно-шлуночкового каналу (ПШК). На 23-й стадії за НН (близько 4-ї доби інкубації) всередині цієї структури з'являлись перші судини, які представляли собою вирости ендотелію ВС. Таким чином, вторинний мезокард виконував функцію своєрідного «містка»,

який використовувався для вrostання коронарних судин з ВС до серця. На подальших етапах розвитку ці судини розповсюджувались у субепікардіальному просторі і являли собою перші вінцеві судини. Оскільки при аналізі серійних зрізів виявилось, що всі судини сполучались між собою та з порожниною ВС, можна стверджувати про ангиогенез, як рушійну силу коронарогенезу на цьому етапі розвитку.

Не дивлячись на те, що з початку свого утворення вінцеві судини отримували кров з венозної судини (ВС), їх сполучення з аортою не виявлялось до 31 стадії за НН (7 доба інкубації). В свою чергу, в періоді між стадіями 27-30 за НН у міокарді випускного тракту на рівні конусного відділу відзначався регіон, всередині якого спостерігались ознаки апоптотичної загибелі клітин. Протягом зазначеного періоду інтенсивність клітинної загибелі в цій ділянці зростала від поодиноких явищ каріопікнозу та каріорексису до самознищення цілої групи клітин, що призводило навіть до розшарування міокарда в цій зоні. На стадії 31 за НН саме на місці цих апоптотичних явищ вперше спостерігалось сполучення коронарних судин з аортою. До цієї стадії серед судин субепікарда розрізати артерії та вени було неможливо, в той час як на стадіях 32-33 за НН навколо артерій формувалася середня оболонка з гладком'язових клітин, що дозволяло стверджувати присутність обох типів судин на цих етапах розвитку.

В той час як коронарні судини розповсюджувались в субепікардіальному просторі, демонструючи дорзо-вентральний градієнт, вкорочення дистанції між венозним синусом та ПШК серця призводило до зникнення вторинного мезокарда на стадії 26 за НН, місце ж його локалізації можна було визначити лише за впадінням коронарних вен до коронарного синуса.

В свою чергу у формуванні вінцевого кровообігу ембріона людини спостерігались певні особливості. В першу чергу, перші ознаки коронарогенезу з'являлись після повного завершення покриття серця епікардіальним епітелієм (що було підтверджено експресією маркеру pancytokeratin над усіма відділами) і полягали в утворенні на 13-й стадії за Carnegie під епікардом еритроїдно-ендотеліальних клітинних комплексів (ЕЕКК). Еритроїдні клітини цих комплексів проявляли високу мітотичну активність, на що вказував високий ступінь експресії маркеру Ki-67. В той же час, частина еритроїдних клітин виявлялась всередині міокарда, ніби затиснутими між кардіоміобластами. З урахуванням відсутності судин в міокарді на даній стадії розвитку можна припустити, що такі клітини червоної крові іммігрували в субепікард з порожнини серця та розмножувались *in situ*. Оскільки при ретельному дослідженні серійних зрізів не було виявлено контакту ЕЕКК з порожниною серця а також один з одним, можна з впевненістю стверджувати, що подібне явище є доказом неоваскулогенезу.



**Рис. 1.** Ембріон людини на 15-й стадії розвитку за Carnegie. А – ембріон, фіксований у формаліні. В-Е – тривимірні моделі серця (синій колір), та еритроїдно-ендотеліальних клітинних комплексів (червоний колір). В, Е – вид спереду; С, D – ззаду.

Дослідження експресії маркеру ендотелію – CD34 – дало змогу визначити наявність в ембріональному серці людини три основні популяції ендотеліальних клітин. Перша з них була асоційована з епікардіальним епітелієм. Оскільки частково представники цієї популяції виявлялись в складі епікардіального епітелію, а частково в субепікарді, можна дійти висновку, що такі ендотеліальні клітини формуються трансдиференціювання епікарда. В субепікарді ці клітини приймали участь у формуванні ЕЕКК.

Друга популяція CD34+ клітин представляла собою вирости ендотелію венозного синуса, напрямлені в бік субепікардіальної мезенхіми ПШК. В роботах іноземних авторів, проведених на ембріонах миші, також можна знайти підтвердження того, що ендотелій венозної судини виступає джерелом ендотелію вінцевих судин [3]. На 15-й стадії розвитку за Carnegie спостерігалось злиття більшості ЕЕКК між собою вдовж міжшлуночкової борозни (рис.1), а на 16-й стадії вперше виявлялись місця контакту судини, що утворювалась таким чином, з порожниною ВС. Цікаво, що місце контакту зазначених судин відповідало локалізації виростів ендотелію ВС, тобто другої популяції CD34+ клітин. Таким чином, імовірно, функція цієї клітинної групи полягає у визначенні місця сполучення коронарних судин з венозною частиною кровообігу.

Отже, після впадіння вінцевих судин до магістрального кровообігу в субепікарді спостерігались люменізовані CD34+ структури, що свідчить про кровонаповнення судин під тиском. Беручи до уваги відсутність сполучення цих судин з аортою, тобто їх сліпозамкненість, а також появу вже на 17-й стадії добре розвинених судин в мезенхімі ПШК, можна заключити, що до неоваскулогенезу приєднується ангиогенез і в подальшому більшість судин утворюється шляхом галуження вже існуючих.

На зразок курячих ембріонів у випускному тракці серця людини протягом 18-ї стадії за Carnegie спостерігаються апоптотичні явища і саме в місці їх локалізації на 19-й стадії відбува-

ється сполучення судин з порожниною аорти. Також до моменту впадіння в аорту з допомогою звичайних методів світлової мікроскопії не можна було відрізнити артерії від вен. Після ж 19-ї стадії в середній оболонці деяких судин з'являлись гладком'язові клітини, що давало змогу вирізнити артерії.

#### Висновки:

1. На стадії 20 за НН з ПЕ курячого ембріона утворюється вторинний дорзальний мезокард, який сполучає ВС та дорзальну поверхню ПШК. Ця структура виконує функцію своєрідного «містка», який на 23 стадії за НН використовується для вrostання перших коронарних судин ангіогенезом з ВС до серця. На цій стадії судини за об'ємом складають 88,8% дорзального мезокарда. На 26 стадії за НН за рахунок поступового вкорочення відстані між ВС та ПШК серця, що супроводжується падінням об'єму судин вторинного мезокарда (з  $2,25 \times 10^6$  мкм<sup>3</sup> на 23-й стадії за НН до  $1,22 \times 10^6$  мкм<sup>3</sup> – на 25-й), вторинний дорзальний мезокард припиняє існувати як такий; в подальшому на місці його локалізації знаходиться впадіння вінцевих вен у вінцевий синус. Сполучення з аортою відбувається лише на 31-й стадії за НН; цій події передують апоптоз міокардіальної манжетки випускного тракту на межі конуса і трункуса.

2. Формування коронарного русла ембріона людини починається після завершення формування зовнішнього шару епікардіального епітелію з неоваскулогенезу, що проявляється в утворенні на 13-й стадії за Carnegie під епікардом шлуночків до 10 еритроїдно-ендотеліальних клітинних комплексів; еритроїдні клітини цих комплексів іммігрують з порожнини серця та розмножуються *in situ* (індекс проліферації 91,3%). На 15-й стадії такі комплекси зливаються між собою вдовж міжшлуночкової борозни, а на 16-й – встановлюють сполучення з венозним синусом шляхом контакту з виростами його ендотелію в місці приростання проепікарда до серця. З цієї стадії сліпо замкнені судини наповнюються кров'ю і до васкулогенезу доєднується ангіогенез, що супроводжується зростанням об'ємної щільності судин субепікарда ПШК борозни від 9,1% до 21,8% на 18-й стадії, при додатковому зростанні об'єму мезенхіми ПШК борозни на 42,1%; на 19-й стадії за Carnegie судини встановлюють зв'язок з аортою, в регіоні апоптозу міоцитів міокардіальної манжетки.

3. CD34-позитивні клітини серця ембріона людини за походженням розділяються на субпопуляції: перша асоційована з епікардіальним епітелієм, формується шляхом його трансдиференціювання, утворює в субепікарді комплекси з клітинами еритроїдного ряду і у такий спосіб дає початок більшій частині коронарного ендотелію; друга асоційована з конденсованою мезенхімою нервового гребеня випускного тракту, участі в утворенні коронарного русла не приймає, залишаючись в складі середньої оболонки інтраперикардіальних частин аорти та легенево-

го стовбуру; третя (найменша) представляє собою вирости ендотелію венозного синуса, що спрямовані всередину субепікардіальної мезенхіми ПШК борозни, та дає початок ендотелію коронарних вен в місці їх впадіння до коронарного синуса.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Твердохліб І. В. Просторова реконструкція біологічних об'єктів за допомогою комп'ютерного моделювання / І. В. Твердохліб // Морфологія. – 2007. – Т. 1, № 1. – С. 135-139.
2. Adult mouse epicardium modulates myocardial injury by secreting paracrine factors / Bin Zhou<sup>1</sup>, Leah B. Honor, Huamei He [et al.] // J. Clin. Invest. – 2011. – Vol. 121, № 5. – P. 1894–1904.
3. Coronary arteries form by developmental reprogramming of venous cells / Kristy Red-Horse, Hiroo Ueno, Irving L. Weissman, Mark Krasnow // Nature. – 2010. – Vol. 464, № 7288. – P. 549–553.
4. Smooth muscle cells and fibroblasts of the coronary arteries derive from epithelial-mesenchymal transformation of the epicardium / M. P. Vrancken Peeters, A. C. Gittenberger-de Groot, M. M. Mentink, R. E. Poelmann // Anat. Embryol. (Berl.). – 1999. – Vol. 199, № 4. – P. 367-78.

Надійшла 01.10.2011 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко