

УДК 611.11.013.018:611.36:616-089.873

О.Ю. Потоцька

МОРФОГЕНЕЗ СЕРЦЯ КУРЯЧОГО ЕМБРІОНА ЗА УМОВ ЗАТРИМКИ РОЗВИТКУ БРУНЬКИ ПЕЧІНКИ

Дніпропетровська державна медична академія (м. Дніпропетровськ)

Дане дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи „Аналіз нормального й аномального гістогенезу тканинних компонентів серцево-судинної системи людини та експериментальних тварин” (номер державної реєстрації 0105U007837).

Вступ. Розвиток серця є одним з найскладніших процесів ембріогенезу, свідченням чого є велика питома вага вроджених вад розвитку саме цього органу (www.congenitalheartdefects.com). Виявлення причин порушення нормального кардіогенезу надасть можливість розробити методи корекції та профілактики виникнення подібних аномалій.

Дослідження останніх років направлені на визначення впливу різноманітних лікарських засобів на ембріональний розвиток, у той час як дослідженню взаємного впливу поруч розташованих ембріональних структур присвячено мало робіт. Яскравим прикладом є взаємодія бруньки печінки та серця: відомо, що просторово брунька печінки

тісно пов'язана з проепікардом (попередником епікарда), відомо також, що формування епікарда є життєво важливою подією раннього ембріогенезу, але остаточно взаємний вплив цих структур залишається не з'ясованим.

Мета дослідження. Визначити вплив затримки розвитку печінки на морфогенез серця курячого ембріона.

Об'єкт і методи дослідження. В якості матеріалу були використані курячі ембріони кросу Cobb 500; проводились стандартні гістологічні процедури обробки; зрізи завтовшки 5 мкм забарвлювали залізним гематоксиліном Гейденгайна. Абляція печінки здійснювалась шляхом введення в жовток 20 мг аміногуанідин сульфату (АГС) в 0,2 мл води на 14-й та 16-й стадіях за Гамбургером та Гамільтоном (НН) [3], за методикою, описаною в ряді робіт [5, 6]. Оскільки за аномального розвитку ознаки, що використовуються для стадіювання за системою НН, змінюються в різному ступені, для оцінки експериментальних ембріонів систему НН ми не використовували. Для створення комп'ютерних

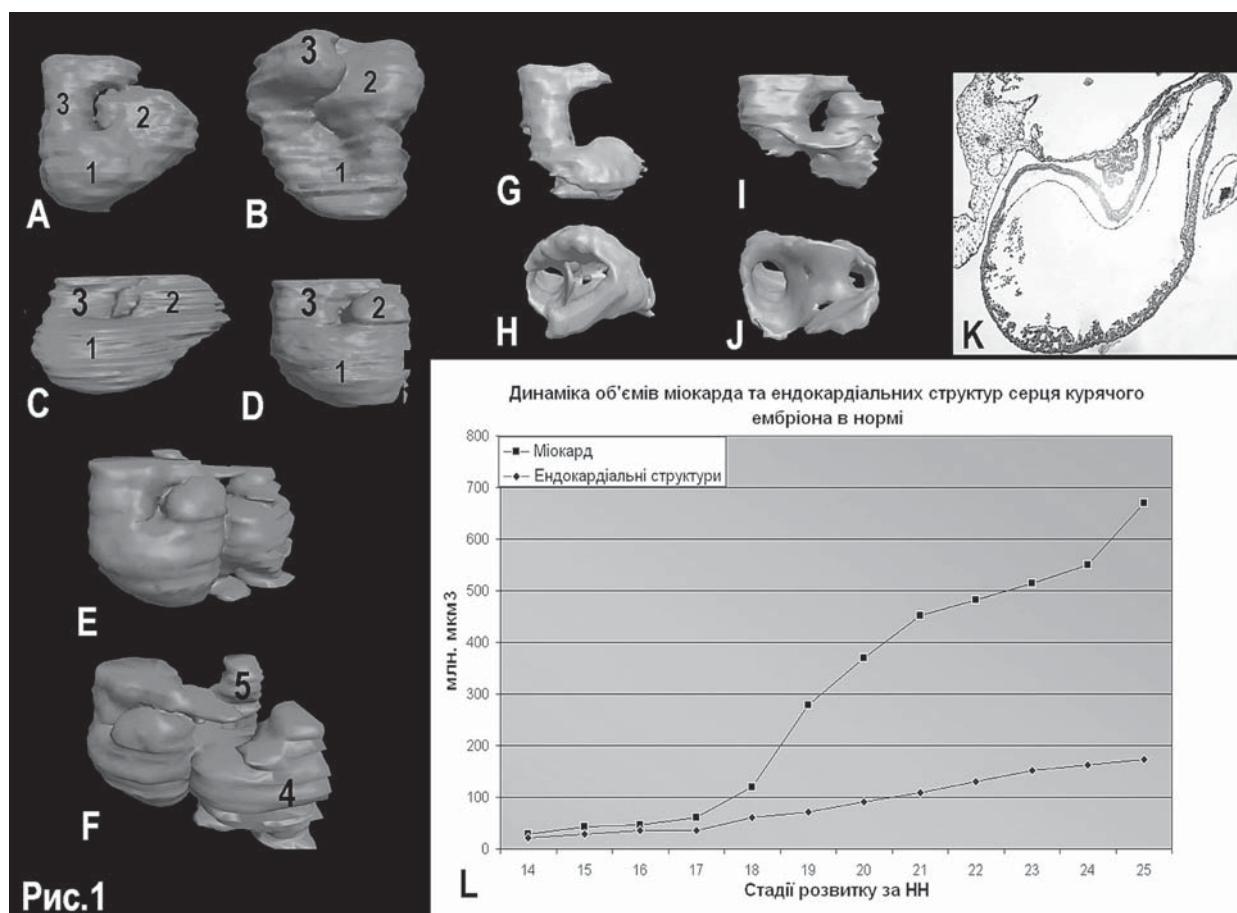


Рис. 1. А – модель серця курячого ембріона на 17, В – на 18 стадії за НН в нормі. С, D – модель серця курячого ембріона першої групи на третій добі інкубації. Е, F – модель серця D з кардинальними венами. G, H – модель ендокардіальних структур серця А. I, J – модель ендокардіальних структур серця D. К – гістологічний зріз серця С; забарвлення залізним гематоксиліном; $\times 100$. L – графік динаміки об'єму міокарда та ендокардіальних структур у нормі. 1 – шлуночок, 2 – передсердя, 3 – випускний відділ, 4 – права і 5 – ліва кардинальні вени.

моделей використовували програмне забезпечення Microsoft Office Picture Manager (підготовка фотографій), Amira for microscopy 5.0 (створення контуру), 3ds max 8.0 (кінцева обробка та візуалізація).

Результати досліджень та їх обговорення. Експериментальні ембріони були розділені на дві групи – в першій введення АГС проводили на 14-й, а в другій – на 16-й стадії за НН. Вибір стадій обумовлений просторовим взаєморозташуванням бруньки печінки та проепікарда: на 14-й стадії вони віддалені один від одного, а на 16-й – проепікардальна мезенхіма об'єднується з навколочечінковою, що дозволяє передбачити існування між ними взаємного впливу [1].

Отже, в першій групі спостерігалась загибель ембріонів до кінця третьої доби ембріонального розвитку, яка відповідає 19 стадії за НН в умовах норми. При гістологічному дослідженні було підтверджено затримку розвитку печінки, яка в жодному випадку не досягала рівня проепікарда. Останній за своїм об'ємом досягав значень, які відповідають 16-й стадії за нормального розвитку, та не контактував із серцем, яке, відповідно, було позбавлене епікарда.

Аналізуючи тривимірні моделі сердець нормальних та експериментальних ембріонів (рис.1 А-Ф) виявилось, що за розміром експериментальні були більше наближені до 17-ої стадії за НН, а основні відмінності будови полягали у розширенні примітивного шлуночку, зменшенні об'єму передсердь та розширенні кардинальних вен (рис. 1 Е, Ф),

що свідчило про розвиток серцево-судинної недостатності. Об'єм міокарда таких ембріонів також не перевищував показників 17-ї стадії за НН (рис. 1 L) та в середньому становив $50,29 \pm 4,98$ млн. мкм³. На відміну від міокарда, об'єм ендокардіальних структур достовірно не відрізнявся від 18-ої стадії за НН, у той час як при гістологічному дослідженні подушки передсердно-шлуночкового каналу (ПШК) здавалися витонченими (рис.1 К). Відомо, що епікард, який формується починаючи з 18 НН, спричинює підвищення проліферативної активності кардіоміоцитів [2], отже, саме відсутністю епікарда можна пояснити затримку наростання об'єму міокарда на 17НН. Оскільки розміри всього ембріона, як і кількість циркулюючої крові продовжують збільшуватись, невідповідність розвитку міокарда проявляється в дилатації шлуночка серця, а це, відповідно, обумовлює розтягнення та витончення подушок передсердно-шлуночкового каналу.

У другій групі ембріони досягли 4,5 доби ембріонального розвитку, яка відповідає 25 стадії за НН в нормі. У таких ембріонів на третій добі спостерігався контакт проепікарда із серцем та початок формування епікарда. Відповідно об'єм міокарда та ендокардіальних структур досягав значень 18-ої стадії за НН ($61,47 \pm 6,79$ і $72,11 \pm 8,02$ млн. мкм³, відповідно).

На 5-й добі пренатального онтогенезу зовні серце за розмірами значно не відрізнялось від такого в нормі, але при проведенні підрахунків було з'ясовано, що об'єм

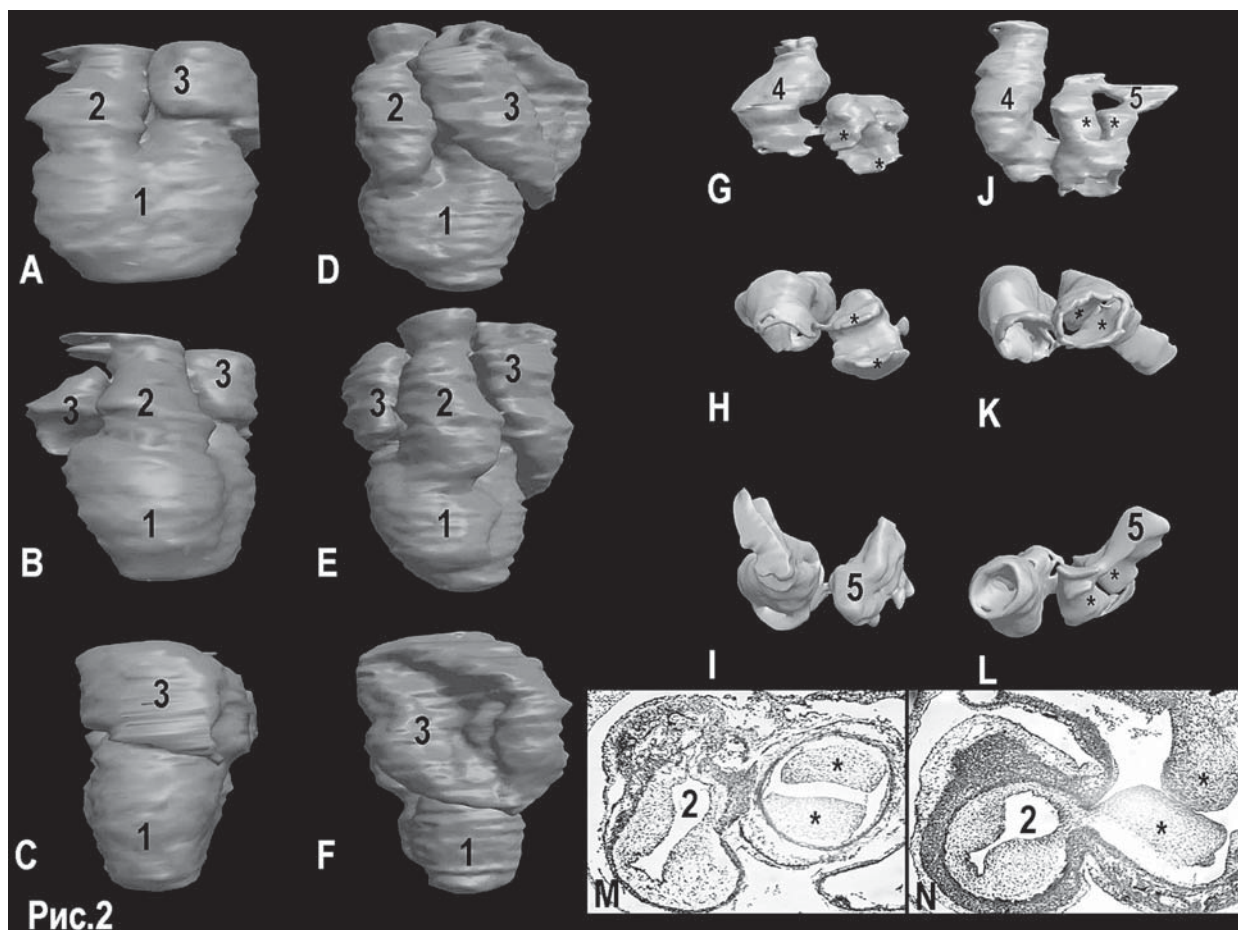


Рис. 2. А, В, С - модель серця курячого ембріона на стадії 25НН у нормі.

D, E, F - модель серця курячого ембріона другої групи на 4,5 доби інкубації. G, H, I – ендокардіальні структури серця А; J, L – ендокардіальні структури серця D. M - гістологічний зріз серця А, N - гістологічний зріз серця D; забарвлення залізним гематоксилином; x100.

1 – шлуночок, 2 – випускний тракт, 3 – передсердя, 4 – гребені випускного тракту, 5 – мезенхімна частина міжпередсердної перегородки. Зірочками позначені подушки ПШК.

міокарда експериментальних ембріонів був в три рази меншим від показників норми ($254,85 \pm 30,11$ млн. $\mu\text{м}^3$). Також звертала на себе увагу різниця форми відділів серця: випускний тракт був вищим від норми, передсердя значно розширені, особливо це стосувалося лівого передсердя, що добре видно на рис. 2 D-F (скоріше за все ця асиметрія викликана положенням ембріона на лівому боці).

Шлуночок, навпаки, був зменшеним, формування міжпередсердної перегородки починалось у вигляді об'єднання групи трабекул та значно не відрізнялось від норми. Відносно ендокардіальних структур відзначалось достовірне зменшення їх загального об'єму ($154,21 \pm 14,43$ млн. $\mu\text{м}^3$), проте меншою мірою, порівняно з міокардом; в основному зменшення об'єму відбувалось за рахунок подушок ПШК, у той час як в конусно-стовбуровому відділі відмінності від норми були не достовірними. Подушки ПШК, хоча досягали значних розмірів, були помітні як окремі структури, над якими у вигляді арки розташовувалась нижня частина первинної міжпередсердної перегородки (рис. 2 G-I, M), тобто розділення ПШК та передсердь не відбувалось. В контрольній групі подушки ПШК зливались між собою та нижньою частиною первинної міжпередсердної перегородки, формуючи комплекс, який розділяв верхню частину серця на правий та лівий відділи (рис. 2 J-N). У випускному тракті відзначалось формування ендокардіальних гребенів, але його розділення на два канали не відбувалось ні в конусному, ні в стовбуровому відділах, тобто ситуація значним чином не відрізнялася від норми. Збільшення довжини цього відділу серця, швидше за все, обумовлене гемодинамічними змінами, що розвивались

за умов перенавантаження серця об'ємом. Описані зміни в серці спостерігались на фоні відсутності в субепікарді мезенхімних клітин, що свідчило про порушення епітеліо-мезенхімної трансформації епікардіального епітелію. Аналізуючи спектр відхилень у розвитку серця другої експериментальної групи, можна припустити, що зменшення об'єму міокарда порівняно з нормою пояснюється відсутністю клітин-дериватів епікарда, які в нормі стимулюють проліферацію кардіоміоцитів. Більший термін життя ембріонів цієї групи можна пов'язати з формуванням епікардіального шару, який, хоча сам по собі не здатен вплинути на збільшення об'єму міокарда, спричинює механічний стримувальний ефект (описаний в [4]), що допомогало серцю витримувати підвищене навантаження об'ємом.

Висновки.

Затримка розвитку печінки

– на 14-й стадії за НН викликає порушення утворення епікарда, затримку розвитку міокарда на рівні 17-ої стадії за НН, дилатацію примітивного шлуночку та загибель ембріонів до кінця третьої доби інкубації.

– на 16-й стадії викликає порушення утворення субепікардіальної мезенхіми, дилатацію передсердь, затримку розвитку міокарда на рівні 19-ої стадії за НН, що супроводжується затримкою септації ПШК та передсердь на рівні 23-й стадії за НН.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно розробити модель абляції бруньки печінки у ссавців та провести експеримент на мишачих ембріонах, оскільки за розвитком серця вони генетично максимально наближені до людини.

Список літератури

1. Потоцкая О. Ю. Взаимосвязь проэпикарда, проэпикардоподобных структур и поперечной перегородки на ранних этапах пренатального онтогенеза кур кросса Cobb 500 / О. Ю. Потоцкая // Морфология. – 2009. – Т. III, № 4. – С. 62-70.
2. Epicardial induction of fetal cardiomyocyte proliferation via a retinoic acid-inducible trophic factor / T.H. -P. Chen, T. -C. Chang, J. -O. Kang [et al.] // Dev. Biol. - 2002. - Vol. 250. - P. 198-207.
3. Hamburger V. A series of normal stages in the development of the chick embryo / V. Hamburger, H. L. Hamilton // J. Morphol. - 1951. - Vol. 88. - P. 49-92.
4. Männer J. Experimental analyses of the function of the proepicardium using a new microsurgical procedure to induce loss-of-proepicardial-function in chick embryos / Männer J., Schlueter J., Brand T. // Dev. Dyn. - 2005. - Vol. 233. - P. 1454-1463.
5. Sugiyama T. Effects of aminoguanidine sulfate on the incorporation of amino acids and bases into chick embryonic liver and body / Takashi Sugiyama, Nobuo Suguro, Akira Hayashida // J. Pharm. Dyn. – 1980. – Vol. 3. – P. 649-658.
6. Sugiyama T. Histological studies on developing chick embryos treated with aminoguanidine sulfate / Takashi Sugiyama, Kenichi Miyamoto, Shizuo Katagiri // J. Toxicol. Sci. – 1985. – Vol. 10. – P. 143-154.

УДК 611.11.013.018:611.36:616-089.873

МОРФОГЕНЕЗ СЕРЦЯ КУРЯЧОГО ЕМБРИОНА ЗА УМОВ ЗАТРИМКИ РОЗВИТКУ БРУНЬКИ ПЕЧІНКИ

Потоцька О. Ю.

Резюме. Метою нашого дослідження було встановити ефект затримки розвитку печінки на морфогенез серця. Для пригнічення бруньки печінки ми вводили в жовтковий мішок ембріонів аміногуанідин сульфат. В результаті експерименту було виявлено порушення утворення епікарда та субепікардіальної мезенхіми, дилатація камер серця, затримка зростання об'єму міокарда на 19НН стадії та менш виразні порушення септації АВ-каналу та передсердь.

Ключові слова: курячий ембріон, серце, брунька печінки.

УДК 611.11.013.018:611.36:616-089.873

МОРФОГЕНЕЗ СЕРДЦА КУРИНОГО ЕМБРИОНА В УСЛОВИЯХ ЗАДЕРЖКИ РАЗВИТИЯ ЗАЧАТКА ПЕЧЕНИ

Потоцкая О. Ю.

Резюме. Целью нашего исследования было определить эффект задержки развития печени на морфогенез сердца. Для угнетения зачатка печени мы вводили в желточный мешок эмбрионов аминоганидин сульфат. В результате эксперимента было обнаружено нарушение образования эпикарда и субэпикардиальной мезенхимы, дилатация камер сердца, задержка увеличения объема миокарда на 19НН стадии и менее выраженные нарушения септации АВ-канала и предсердий.

Ключевые слова: куриный эмбрион, сердце, зачаток печени.

UDC 611.11.013.018:611.36:616-089.873

MORPHOGENESIS OF THE HEART OF CHICKEN EMBRYO UNDER DELAY OF LIVER BUD DEVELOPMENT

Pototskaya O. Yu.

Summary. The purpose of our research was to investigate the effect of inhibition of liver bud development on heart morphogenesis. To inhibit the liver bud we injected aminoguanidine sulfate into the yolk sack of chick embryos. We observed violation of epicardium formation, absence of subepicardial mesenchyme, dilatation of cardiac chambers, delay of myocardium volume growth on the level up to 19HH stage and less prominent disturbance of AV-channel and atrial septation.

Key words: chick embryo, heart, liver bud.

Стаття надійшла 30.03.2011 р.