

**Козлов В.О., Шаторна В.Ф., Савенкова О.О., Козлов С.В., Козловська Г.О.
ФОРМОУТВОРЕННЯ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ СЕРЦЯ В НОРМІ ТА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ВАД
РОЗВИТКУ**

Дніпропетровська державна медична академія

ФОРМОУТВОРЕННЯ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ СЕРЦЯ В НОРМІ ТА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ВАД РОЗВИТКУ – Метою дослідження було встановлення механізмів, етапів розвитку серця в нормі і формування вад розвитку під дією гіпоксії. Матеріалом дослідження послужили серця ембріонів і плодів людини в кількості 23 і курячі ембріони (30 шт.), які зазнали впливу гіпоксії під час інкубації. Встановили основні етапи і механізми розвитку структурних компонентів серця людини в нормі і формування вад розвитку під дією гіпоксії в експерименті на курячих ембріонах. Виявили, що основні формуючі процеси в ембріональному серці відбуваються за участю ендокардіальних подушок атриовентрикулярного каналу і делямінації міокарда шлуночків. Під впливом гіпоксії спостерігалися порушення у формуванні серцевої стінки ембріонів. Аномальний розвиток трабекул міокарда частіше спостерігався в середній третині шлуночків і майже зовсім не зустрічався в ділянці верхівки серця. В середній третині шлуночків серця ми спостерігали в окремих випадках “двошаровий міокард”, що свідчить про порушення механізмів утворення серцевої стінки під впливом гіпоксії. В стінці передсердя формуються аномальні трабекули з тонкою основою і масивними потовщеннями на кінцях, які містять численні судини, що в нормі на даному етапі розвитку не зустрічається.

ФОРМОБРАЗОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ СЕРДЦА В НОРМЕ И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ – Целью исследования было установление механизмов, этапов развития сердца в норме и формирование пороков развития под действием гипоксии. Материалом исследования послужили сердца эмбрионов и плодов человека в количестве 23 и куриные эмбрионы (30 шт.), которые подвергались влиянию гипоксии во время инкубации. Установили основные этапы и механизмы развития структурных компонентов сердца человека в норме и формирование недостатков развития под действием гипоксии в эксперименте на куриных эмбрионах. Вывявили, что основные формообразовательные процессы в эмбриональном сердце происходят при участии эндокардиальных подушек атриовентрикулярного канала и деляминации миокарда желудочков. Под влиянием гипоксии наблюдались нарушения в формировании сердечной стенки эмбрионов. Аномальное развитие трабекул миокарда чаще наблюдалось в средней трети желудочков и почти совсем не встречалось в области верхушки сердца. В средней трети желудочков сердца нами наблюдался в отдельных случаях “двухслойный миокард”, что свидетельствует о нарушении механизмов образования сердечной стенки под влиянием гипоксии. В стенке предсердия формируются аномальные трабекулы с тонким основанием и массивными утолщениями на концах, которые содержат многочисленные сосуды, что в норме на данном этапе развития не встречается.

FORMATION OF STRUCTURAL COMPONENTS IN THE NORMAL HEART AND DURING ANOMAL DEVELOPMENT MODELLING – The purpose of the current study was to determine mechanisms, stages of development of normal heart and under hypoxia effect. The 23 hearts of human embryos and fetuses and 30 chicken embryos after hypoxia action during incubation were used. The basic stages and mechanisms of development of normal human heart and abnormal chick heart after hypoxia were determined. It was revealed that the basic formation processes in an embryonic heart took place with the participation of endocardial cushions of atrioventricular channel and delamination of ventricular myocardium. The abnormal formation of the heart wall after hypoxia was observed. The abnormal development of trabeculae was observed in middle third of ventricles more frequently and could almost not be found in the apex of heart. In some cases the heart wall consisting of two layers in middle third of ventricles was observed, suggesting about the altered mechanisms of formation of cardiac wall under hypoxia. The anomalous trabeculae with thin base and massive bulges on the ends with numerous vessels were formed in the wall of auricles that has never been found during normal development.

Ключові слова: ембріогенез, серце, міокард, клапани серця.

Ключевые слова: эмбриогенез, сердце, миокард, клапаны сердца.

Key words: embryogenesis, heart, myocardium, valves of heart.

Актуальність Бажання зрозуміти механізм формування уроджених пороків і аномалій серця і судинної системи обумовлює подальший інтерес до проблеми ембріонального розвитку серця. 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 зали-

шається невисвітленим. Основні гіпотези, що стосуються пороків і аномалій формування серця, великих судин ґрунтуються на концепції затримки філогенетичного розвитку. Останнім часом використання нових методів істотно розширило знання і дозволило досліджувати функцію серця, внутрішньосерцевий кровообіг, формування позаклітинного матриксу, клітинну проліферацію, клітинну смерть, міграцію клітин при нормальному й аномальному розвитку серця [1, 2, 3]. В цьому аспекті набувають значення медична ембріологія і порівняльна ембріологія та їх методи дослідження. Результати порівняльно-анатомічних та порівняльно-ембріологічних досліджень мають теоретичне (вияв шляхів та механізмів еволюції) та практичне (вибір експериментальних варіант для вірної інтерпретації даних та їх екстраполяції на організм людини) значення. Розробка методів експериментальних моделей уроджених вад серця та магістральних судин привертає увагу дослідників [4, 5, 6].

Метою дослідження було встановлення механізмів, етапів розвитку серця в нормі та формування вад розвитку під дією гіпоксії. Матеріалом дослідження послужили серця ембріонів і плодів людини в кількості 23 та курячі ембріони (30 шт.), які зазнавали впливу гіпоксії під час інкубації. Використовувалися такі морфологічні методики як препарування, виготовлення серійних гистологічних зрізів, інкубація, вплив гіпоксії під час інкубації та морфометрія.

Результати дослідження Під час петлеутворення серце складається тільки з трьох шарів: міокарда, кардіогелю, ендокарда. Після завершення петлеутворення, на той час, коли ембріон має довжину 5-6 мм, зовнішня форма серця нагадує форму зрілого серця. Внутрішня структура серця – залишається простою трубкою з декількома розширеннями. Загальне передсердя, як і раніше, з'єднується з впускним сегментом (примітивним шлуночком) через нерозділений атриовентрикулярний канал. Процес поділу серця перегородками відбувається завдяки декільком механізмам, при цьому завершення формування різних структур здійснюється в різний час. Цілоком 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 випускний сегмент. Поділ перегородкою атриовентрикулярного каналу починається з появи злиття безкліткових мас ендокардіальних подушок на верхній і нижній межі атриовентрикулярного отвору в ембріона довжиною приблизно 6 мм (ТКД). Ці ендокардіальні подушки збільшуються, стають вираженими структурами. На цій стадії вони функціонують як провізорні клапани.

Природа ендокардіальних подушок і механізм їхнього формування – предмет численних досліджень і припущень. Кардіогель дивно рівномірно розподіляється в стінці серцевої трубки на ранніх стадіях, але пізніше редукується в області передсердя та шлуночку і зберігається лише в атриовентрикулярному каналі. Коли подушки сформовані, вони відносно малоклітинні, але ендокардіальні клітини починають мігрувати в подушки і відбувається епітеліально-мезенхімна трансформація. Атриовентрикулярний отвір збільшується, подушки розширюються і сягають одна одної. В ембріонів при тім'яно-куприковій довжині 10-11 мм подушки зливаються, розділяючи атриовентрикулярний канал на правий і лівий отвори. Наші дослідження показали, що ендокардіальні подушки атриовентрикулярного каналу відіграють значну роль у формуванні листків передсердно-шлуночкових клапанів, а міокард шлуночків бере участь у формуванні апарата, що напружує. Одночасно з поділом

каналу завершується формування первинної перегородки в передсердях. Об'єм ендокардіальних подушок на цей час майже повністю побудований мезенхімними клітинами внаслідок епітеліально-мезенхімних перетворень, що відбуваються в ендокарді.

Формування клапана починається розшаруванням (делямінацією) верхньої частини міокарда шлуночків. Обсяг подушок на цей період продовжує збільшуватися в лівій половині серця від 11% від обсягу серця на ранніх стадіях до 22% на більш пізніх стадіях. Розшарування продовжується разом з посиленням процесів трабекуляції і завершується відокремленням подушки разом з підлеглим шаром міокарда. Делямінація шлуночка призводить до розшарування верхньої частини стінки на два неоднакові товщини шари. Внутрішній шар міокарда тонкий і несе на собі залишки ендокардіальної подушки, а зовнішній шар, який утворює саму стінку шлуночка, зостається набагато товщим. Делямінація стінки шлуночка не поглиблюється донизу, а залишається у вигляді щілини верхньої частини стінки. Порожнина у міокарді, що утворюється внаслідок делямінації, вкрита шаром ендотелію, який зостається від ендотеліального шару первинних трабекул шлуночка.

Закладка та формування колагенових волокон відбувається одночасно у стулці клапана, у соскоподібному м'язі та передсердношлуночкової борозні і міокарді. Тобто, колагенові волокна формуються єдиним пластом, який з'єднує міокард, стулку клапана та соскоподібний м'яз. Самі стулки клапана мають складчасту форму, бо мають надмірний розмір, тому на фотографіях зрізів серця ми бачимо лише частину цих складок. Речовина стулок на даній стадії розвитку – це мезенхімні клітини, що мають класичну зірчасту форму, серед яких з'являються перші колагенові волокна (прошарки синього кольору). Таким чином, шар колагенових волокон з самого початку процесу делямінації поєднує речовину стінки шлуночка, клапана та майбутнього соскоподібного м'яза у єдине ціле, всупереч уявленню про з'єднання виступу передсердношлуночкової борозни та виступу міокарда шлуночка 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 шлуночка, що не втратив з ним зв'язку.

Гістологічні дослідження на людині з 3-го тижня гестації до 10 років життя установили вікові зміни в напівмісячних клапанах. На стадії 15 випускний канал, що має форму букви Н, формується чотирма ендокардіальними подушками. На стадії 16 (ТКД 9 мм) аортальний і легеневої випускний тракти чітко відокремлюються один від одного, і на стадії 17 останній за течією крові кінець ендокардіальних подушок набуває клапаноподібного вигляду. Кожна з великих подушок розділяється і дає початок двом листкам кожного клапана, уставне клапанне узвишся дає початок третьому листку.

Виділяючи основні етапи у формуванні серцевих камер, перегородок та клапанів як критичні періоди розвитку серця ми спробували в такі ж моменти розвитку курячого зародка провести вплив гіпоксії та провести моделювання вад розвитку серця. Досліджуючи вплив такого тератогенного чинника як гіпоксія, ми спостерігали невластиву для нормального кардіогенезу картину нещільного прилягання епікарда до міокарда шлуночка. Це свідчить про затримку формування серцевої стінки. В наших дослідженнях

епікард шлуночків ембріонального серця птахів після впливу гіпоксії розташовувався досить пухко по відношенню до міокарда, чого не спостерігається в нормі. Міокард шлуночків під впливом гіпоксії утворював «містки» між окремими трабекулами, що також було аномальним явищем (рис. 1). 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 вкриває їх досить пухко, на відміну від самих трабекул.

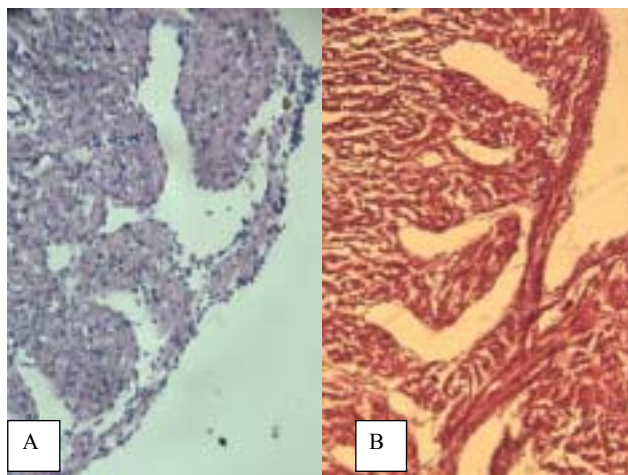


Рис. 1. Утворення «містків» між трабекулами міокарда шлуночків серця під впливом гіпоксії у ембріона курчати 9 днів (А) та 12 днів (В) інкубації. Фарбування гематоксилін-еозином, збільшення: об. х 20, ок. х 40 (А), об. х 20, ок. х 20 (В).

У міокарді шлуночків і передсердь нами виявлено більш високий ступінь васкуляризації, порівняно 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 проростання судин нами помічено не було в міокарді в обох групах, тому що живлення цих елементів серцевої стінки здійснюється з порожнини серця. Привертає увагу також те, що збільшується периваскулярний простір, а також збільшені інтерстиціальні проміжки між пучками кардіоміоцитів.

В описаний період кардіогенезу в стінці передсердь формуються аномальні трабекули з тонкою основою й масивними стовщеннями на кінцях. При великому збільшенні видно, що вони містять численні судини з елементами крові. Епікард передсердь місцями багаточаровий, пухко впакований. Такі зміни в серцевій стінці не можуть не викликати порушень у механізмі скорочення серцевої стінки.

ВИСНОВКИ В результаті дослідження ранніх етапів розвитку серця виявили, що утворення клапанного апарату серця та його внутрішнього рельєфу відбувається завдяки розвитку ендокардіальних подушок атріовентрикулярного каналу та делямінації міокарда шлуночків. Спочатку свого утворення обсяг подушок заповнений кардіогелем, який на більш пізніх стадіях заміщується мезенхімними клітинами. Самі подушки відіграють роль

провізорного клапана. Утворення клапанів відбувається завдяки процесу делямінації міокарда стінки шлуночків. На курячих ембріонах встановили основні етапи і механізми розвитку серцевої стінки в нормі та формування вад розвитку під дією гіпоксії. Під впливом гіпоксії спостерігали порушення у формуванні серцевої стінки ембріонів. Аномальний розвиток трабекул міокарда частіше спостерігався в середній третині шлуночків і майже зовсім не зустрічався в області верхівки серця. В середній третині шлуночків серця ми спостерігали в окремих випадках «двошаровий міокард», що явно свідчить про порушення механізмів утворення серцевої стінки під впливом гіпертермії. В стінці передсердь формуються аномальні трабекули з тонкою основою й масивними стовщеннями на кінцях, які містять численні судини (в нормі на даному етапі розвитку ми не зустрічали судин в стінці передсердь). В перспективі подальших досліджень цікавими виглядають моделювання пороків клапанного апарату та крупних судин серця.

ЛІТЕРАТУРА

1. Горелова Н.І., Сілкина Ю.В. Гістогенетичні процеси в ранньому кардіогенезі людини // Вісник проблем біології і медицини. – 2004. – №4. – С. 78-84.
2. Козлов В.А., Шаторная В.Ф., Довгаль Г.В., Крамар С.Б., Абдул-Оглы Л.В., Зозуля Е.С. Закладка папиллярных мышц и сухожильных нитей сердца в раннем эмбриогенезе // Матеріали першої всеукраїнської науково-практичної конференції «Україна наукова 2001». – Дніпропетровськ, 2001. – С. 17-18.
3. Экспериментальное моделирование врожденных пороков сердца и магистральных сосудов/ Под ред. Г.С.Кирьякулова.- Київ: «Вища школа»- 1994.- 158 с.
4. Anderson R.H., Wenink A.C. Thoughts on concepts of development of the heart in relation to the morphology of congenital malformation // *Experientia*. – 1988. – № 11. – P. 951-960.
5. Development of the papillary muscles of the mitral valve: morphogenetic background of parachute-like asymmetric mitral valves and other mitral valve anomalies / P.W. Oosthoek, A.C. Wenink, L.J. Wisse, A.C. Gittenberger-de Groot // *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery*. – 1998. – Vol. 116, № 1. – P. 36-46.
6. Khloponin P.A. 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.

Постолок І.Г.

СТАН РЕЦЕПТОРНОГО АПАРАТУ ДО СТЕРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ В МІОЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ПУХЛИНАХ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака АМН України, м. Донецьк

СТАН РЕЦЕПТОРНОГО АПАРАТУ ДО СТЕРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ В МІОЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ПУХЛИНАХ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ – Робота базується на імуногістохімічному типуванні тканини інвазивних форм раку молочної залози 25 пацієнтів. Використовували мишачі моноклональні антитіла (МАТ) до панцитокератинів (клон АЕ1/АЕ3, DAKO), епітеліального мембранного антигену ЕМА (клон Е29, DAKO), виментину (клон Vim 3V4, DAKO), гладком'язового актину SMA (клон 1A4, DAKO), CD10 (клон 56C6, Novocastra), p63 (клон 4A4, DAKO) і поліклональні антитіла до протеїну S-100 (DAKO). Показано, що імуногістохімічне типування тканини пухлинного вузла дозволяє надійно діагностувати міоепітеліальний компонент пухлини, адекватно визначити ступінь її злоякісності і сприяє розкриттю біологічної сутності раку молочної залози. Імуногістохімічно міоепітеліальні карциноми характеризуються вираженою реактивністю витягнутих клітин для гладком'язового актину (SMA), CD10, p63 та цитокератину (АЕ1/АЕ3), помірною реактивністю до протеїну S-100 і дифузною реактивністю до виментину. Відмітною морфологічною характеристикою міоепітеліальних карцином є відсутність в рецепторах міоепітеліоцитів експресії стероїдних (ER- і PR-) гормонів.

СОСТОЯНИЕ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА К СТЕРЕОИДНЫМ ГОРМОНАМ В МИОЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ – Работа базируется на иммуногистохимическом типировании ткани инвазивных форм рака молочной железы 25 пациентов. Использовали мышинные моноклональные антитела (МАТ) к панцитокератинам (клон АЕ1/АЕ3, DAKO), эпителиальному мембранному антигену ЭМА (клон Е29, DAKO), виментину (клон Vim 3V4, DAKO), гладкомышечному актину SMA (клон 1A4, DAKO), CD10 (клон 56C6, Novocastra), p63 (клон 4A4, DAKO) и поликлональные антитела к протеину S-100 (DAKO). Показано, что иммуногистохимическое типирование ткани опухолевого узла позволяет надежно диагностировать миоепителиальный компонент опухоли, адекватно определить степень ее злокачественности и способствует раскрытию биологической сущности рака молочной железы. Иммуногистохимически миоепителиальные карциномы характеризуются выраженной реактивностью витянутых клеток для гладкомышечного актина (SMA), CD10, p63 и цитокератина (АЕ1/АЕ3), умеренной реактивностью к протеину S-100 и диффузной реактивностью к виментину. Отличительной морфологической характеристикой миоепителиальных карцином является отсутствие в рецепторах миоепителиоцитов экспрессии стероидных (ER- и PR-) гормонов.

CONDITION OF RECEPTOR APPARATUS TO STEROID HORMONES IN MYOEPITHELIAL CARCINOMAS OF BREAST – The work is based on immunohistochemical research of tissue of invasive breast tumors of 25 women. Mice immunohistochemical monoclonal antibodies (MAB) to pan-cytokeratins (clone АЕ1/АЕ3, DAKO), epithelial membrane antigen EMA (clone Е29, DAKO), vimentin (clone Vim 3V4, DAKO), smooth muscular actin SMA (clone 1A4,

DAKO), CD10 (clone 56C6, Novocastra), p63 (clone 4A4, DAKO) and polyclonal antibodies to protein S-100 (DAKO) were used. It was shown, that immunohistochemical research of tissue of the tumour allows to diagnose reliably myoepithelial component of tumour, to determine adequately a degree of its malignancy and promotes disclosure of biological essence of breast cancer. Immunohistochemistry of myoepithelial carcinomas is characterized by expressed response of cells for smooth muscular actin SMA, CD10, p63 and cytokeratin (АЕ1/АЕ3), moderate response to protein S-100 and diffuse response to vimentin. Distinctive morphological feature of myoepithelial carcinomas is the lack of myoepithelial cells of steroid expression in receptors (ER- and PR-) hormones.

Ключові слова: міоепітеліальні карциноми, рак молочної залози, імуногістохімія.

Ключевые слова: миоепителиальные карциномы, рак молочной железы, иммуногистохимия.

Key words: myoepithelial carcinomas, breast cancer, immunohistochemistry.

ВСТУП В останні роки в клінічній онкології активно вивчаються різноманітні молекулярно-біологічні чинники – маркери клітинного та іншого походження, які підпадають під зміни при виникненні і прогресії неоплазії [2]. Дослідження цих чинників дозволяє прогнозувати відповідь на хімотерапію та ендокринотерапію, перебіг хвороби і віддалені результати лікування. До них відносяться чинники, відповідальні за пухлинне диференціювання (HER-2/neu, p53 тощо), показники проліферативної активності (PCNA, Ki-67), апоптозу (Bcl-2), ангиогенезу (VEGF), а також експресію клітинами пухлинного вузла рецепторів до стероїдних гормонів – естрогенів і прогестерону.

На сьогодні гормонотерапія, поряд з хірургічним, променевим, хіміотерапевтичним та іншими відомими методами лікування раку молочної залози, є одним із ключових моментів у досягненні максимального ефекту комплексної терапії. Досить добре вивчені механізми дії гормональних препаратів. Виділено чинники прогнозу гормоночутливості, найважливішими з яких є вік хворої, її менструальний статус і рівень рецепторів стероїдних гормонів у клітинах пухлини [7]. Доведено, що висока кількість рецепторів естро-