

Trends in Neurosciences, 21 (3), 107–113. doi: 10.1016/s0166-2236(97)01191-0

11. Liu, Z., Martin, L. J. (2003). Olfactory bulb core is a rich source of neural progenitor and stem cells in adult rodent and human. *The Journal of Comparative Neurology*, 459 (4), 368–391. doi: 10.1002/cne.10664

12. Viktorov, I. V., Savchenko, E. A., Uhova, O. V., Alekseeva, N. Ju., Chehonin, V. P. (2006). Mul'tipotentnye stvolovye i progenitornye kletki obonjatel'nogo jepitelija [Cell technologies in biology and medicine], 4, 185–193.

13. Calof, A., Mumm, J. S., Pim, P. C., Shou, J. (1998). The neuronal stem cells of the olfactory epithelium. *Journal of Neurobiology*, 36 (2), 190–205. doi: 10.1002/(sici)1097-4695(199808)36:2<190::aid-neu7>3.0.co;2-x

14. Reynolds, B. A., Weiss, S. (1996). Clonal and Population Analyses Demonstrate That an EGF-Respon-

sive Mammalian Embryonic CNS Precursor Is a Stem Cell. *Developmental Biology*, 175 (1), 1–13. doi: 10.1006/dbio.1996.0090

15. Xiao, M., Klueber, K. M., Lu, C., Guo, Z., Marshall, C. T., Wang, H., Roisen, F. J. (2005). Human adult olfactory neural progenitors rescue axotomized rodent rubrospinal neurons and promote functional recovery. *Experimental Neurology*, 194 (1), 12–30. doi: 10.1016/j.expneurol.2005.01.021

16. Novikov, R. R. (2014). Vlijanie tkanevoj nejrotransplantacii na dinamiku regressa nevrologicheskogo deficita pri pronikajushhem lokal'nom povrezhdenii bol'shih polusharij golovnogogo mozga v jeksperimente [The influence of tissue neurotransplantation on the dynamics of the regression of neurological deficit in penetrating the local damage of the big hemispheres of a brain in the experiment]. *Journal of Eurasian Union of scientists*, 5, 91–95.

Рекомендовано до публікації д-р мед. наук, професор Цимейко О. А.

Дата надходження рукопису 16.04.2015

Новиков Руслан Романович, аспірант, кафедра нейрохірургії, Національний медичний університет імені А. А. Богомольця, ул. Платона Майбороди, 32, г. Київ, Україна, 04050
E-mail: ruslandok1@mail.ru

УДК 611.1:612.6

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.43297

РОЗВИТОК ВІНЦЕВОЇ СУДИННОЇ СИСТЕМИ

© О. О. Яковець, С. В. Козлов

В роботі розглянуті питання формування та розвитку в'язцевої судинної системи людини на ембріональному етапі онтогенезу. З використанням як традиційних гістологічних методів дослідження, так і сучасних імуногістохімічних було встановлено, що спеціалізація судинних ланок має закономірну послідовність, а саме після артеріо-венозної детермінації починається етап лімфатичної спеціалізації венозних ендотеліальних клітин з формуванням первинної лімфатичної ланки в'язцевої судинної системи

Ключові слова: розвиток, ембріон людини, судини серця

Aim. Set the terms of occurrence and morphological markers of coronary vessels in the embryonic period of human ontogenesis.

Material and methods. To realize the aim of our work the embryos of human heart from 5 th to 8 th week of prenatal development period were investigated in the amount of 60. The obtained specimens were evaluated by immunohistochemical study. For this purpose, the original monoclonal antibodies have been used, such as transcription factor Prox-1, cell proliferation marker Ki-67, an endothelial marker CD-34 and smooth-muscle actin (α -SMA). To identify the reaction the solution of chromogen 3-diaminobenzidine tetrachloride was applied, which is manifested in a rich brown color in the sensitive cells of the cardiac wall.

Conclusions: The morphological specialization of vascular links of coronary system in the embryonic period has a natural sequence – acquisition of venous properties at first and parallel differentiation of arterial structures. After arteriovenous determination the next phase begins – lymphatic specialization of venous endothelial cells with the formation of lymphatic links of coronary vascular system

Keywords: development, human embryo, heart vessels

1. Вступ

Формування в'язцевої судинної системи є важливим та одночасно складним етапом в ембріональному періоді розвитку людини [1]. Диференціація різних ділянок судинного русла в ембріональному періоді обумовлена з одного боку генетичною детермінованістю, з іншого – специфічними властивостями

ми для забезпечення потреб навколишнього клітинного оточення. В дефінітивному форматі судинна система серця складається з артеріальної, венозної ланок, мікроциркуляторного сегмента, лімфатичної мережі. В'язцева судинна система формується з клітин-попередників, джерело яких знаходиться поза серцем, мігрують з утворенням епікарду, диферен-

цюються в ендотеліальні клітини, гладко – м'язові клітини та фібробласти, з утворенням первинної судинної мережі [2]. На початковому етапі кардіогенезу, коли камери серця мають трабекулярну будову, кардіоміоцити отримують кисень шляхом дифузії з порожнини серця. Поступове потовщення стінок камер серця за рахунок компактизації трабекул призводить до низки подій, які сприяють формуванню вінцевих судин [3]. Для більш якісного розуміння та ідентифікації на ранніх етапах вінцевого ангиогенезу спеціалізованих судинних компонентів в сучасних наукових дослідженнях використовують молекулярні маркери [4]. В сучасних наукових роботах представлені різні теорії походження вінцевих артеріальних судин. Найбільш розповсюдженою думкою є така, у відповідності з якою формування нових коронарних судин відбувається з ендотеліальних трубок, які складаються з похідних клітин епікарду. За даними [5] головним джерелом вінцевих артерій, капілярів є венозні ендотеліальні клітини венозної пазухи серця, які мігрують в товщу компактного міокарду та змінюють свою спеціалізацію.

В останній час приділяється все більше уваги питанням ідентифікації різних ланок вінцевого русла упродовж пренатального онтогенезу. У зв'язку з цим дослідження розвитку серця та судинної системи залишаються актуальною проблемою в сучасних морфологічних роботах.

2. Обґрунтування дослідження

Дослідження виконано у рамках науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини «Розвиток і становлення органів і тканин експериментальних тварин і людини в онтогенезі в нормі і під впливом зовнішніх факторів» (номер державної реєстрації 0112U002124).

Мета дослідження. Встановити терміни появи та морфологічні маркери вінцевих судин в ембріональному періоді онтогенезу людини.

3. Матеріал та методи дослідження

Для реалізації мети нашої роботи були досліджені серця ембріонів людини з 5-го по 8-й тиждень пренатального періоду розвитку у кількості 60. Ембріони людини без вродженої патології були отримані від здорових матерів, що підтверджувалося медичною документацією при надходженні їх в стаціонар. Всі штучні переривання вагітності були проведені за соціальними показниками. Використаний нами матеріал отримували у відповідності з існуючими нормативно-правовими актами, а також при узгодженні з комісією з біомедичної етики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол №3 від 21 березня 2008 року).

Отриманий матеріал занурювали у 10 % розчин нейтрального забуференого формаліну терміном на 24 години з метою фіксації та стабілізації клітино-тканинних структур. Проводку у спиртах морфоматеріалу проводили після фіксації за стандартною методикою. Після проводки матеріал заливали у парафін.

Зрізи товщиною 5–7 мкм виготовляли на мікротомі та забарвлювали гематоксиліном–еозином.

Забарвлення парафінових зрізів гематоксилін-еозином проводили за стандартною методикою [6]. Парафінові зрізи витримували у ксилолі 3-и разово протягом 2 хвилин, переносилися в 96 % спирт, тричі змінюючи розчин з експозицією 2 хвилини, поміщали в розчин гематоксиліну з 2-х хвилинною експозицією. До прояви барвника зрізи перебували від 2-х до 5-ти хвилин в 50 °С воді. Витримували препарати у розчині еозину від 15 секунд до 2-х хвилин, переносились в 96 % спирт, тричі змінюючи розчин з експозицією 2 хвилини, поміщали в карбол-ксилол на 2 хвилини, одноразово в ксилол з 2-х хвилинною експозицією. Після видалення залишків ксилолу навколо зрізу наносили канадський бальзам і накривали покривним склом (menzel-gläser).

Після отримання мікропрепаратів оцінювали їх з метою подальшого імуногістохімічного дослідження. Для цього були використані первинні моноклональні антитіла, а саме фактор транскрипції Prox-1, маркер проліферації клітин Ki-67, ендотеліальний маркер CD-34 та гладко-м'язевий актин (α -SMA). Для ідентифікації реакції наносили розчин хромогену 3-діамінобензидин тетрачлориду, який проявлявся у вигляді насичено коричневого забарвлення чутливих клітин стінки серця.

Препарати досліджені за допомогою мікроскопів Carl Zeiss Axioskop 40 і Carl Zeiss Primo Star. Для отримання мікрофотографій використовували фотоапарат CANON Power Shot A640 (Canon PC1200) 10 mega pixels, адаптерні системи Soligor Adapter Tube for Canon A610 / A620 52mm Wide, Soligor Adapter Tube for Canon A610/A620 52mm Tele, Carl Zeiss 426126, використано ліцензійне програмне забезпечення AxioVision AxioVs40V4.6.3.0; Microsoft Windows XP, SP3.

4. Результати дослідження та їх обговорення

Розвиток вінцевої судинної системи – це складний багатоетапний процес, який згідно сучасних уявлень містить низку послідовних морфогенетичних подій, а саме процес утворення нових судин з клітин-попередників (васкулогенез), формування первинної судинної ланки шляхом проростання, розгалуження, брунькування, інвагінації та злуки (ангіогенез) та ремоделювання сформованого судинного русла з набуттям топологічних та органоспецифічних властивостей.

У 5-ти тижневих ембріонів відбуваються активні структурно-проліферативні процеси в серці на органному та тканинно-клітинному рівнях. Формування чотирьохкамерного органу, морфологічні ознаки початку утворення міжпередсердної та міжшлуночкової перегородок поєднуються з інтенсивним розвитком стромального компонента стінок серця, який на цей час представлений ендотелієм міжтрабекулярних просторів та серцевим гелем з пухко розташованими мезенхімними клітинами. В цитоплазмі серцевих міоцитів м'язових трабекул поряд з

повздожніми міофібрилами виявлялися поперечні, що свідчило про більш високий ступінь диференціювання міоцитів трабекулярного міокарду у порівнянні з компактним. М'язові трабекули були вислані одним шаром ендотеліальних клітин. Міжтрабекулярні простори представляли собою глибокі пазухи, які вільно сполучалися з порожнинами серця. Міокард стінок серця має компактно-трабекулярну будову з різним ступенем проліферативної активності кардіоміоцитів компактної зони шлуночків, передсердь та трабекулярного відділу шлуночків з найвищим рівнем у останнього, що підтверджено реакцією з імуногістохімічним маркером проліферації Ki-67.

У 6-тижневих ембріонів ендотеліоцити ендокарду та міжтрабекулярних просторів мають веретеноподібну форму з крупними центрально розташованими овальними ядрами. Ендотелій ендокарду в цей період знаходиться в активній фазі проліферації, про що свідчить дифузна реакція з ендотеліальним маркером CD-34. Пенетрує та проростає в товщу компактного міокарду з утворенням щільної сітки навколо скупчень кардіоміоцитів, які ще не мають чіткої орієнтації та пошарової упорядкованості. В субепікардальному просторі виявляються сплюснені видовженої форми численні клітини з відростками, нечисленні пучки тонких фібрил без певної орієнтації та поодинокі первинні капілярноподібні структури з одним шаром ендотеліоцитів (рис. 1).

На 7-му тижні ембріонального періоду на фоні очевидних проявів морфологічних трансформацій в серці ендотелій чітко відмежовує всі щілини, лакуни трабекулярного міокарду та міжтрабекулярні простори від атріальних та вентрикулярних порожнин, що дозволяє забезпечити в певному ступеню трофіку міокарду.

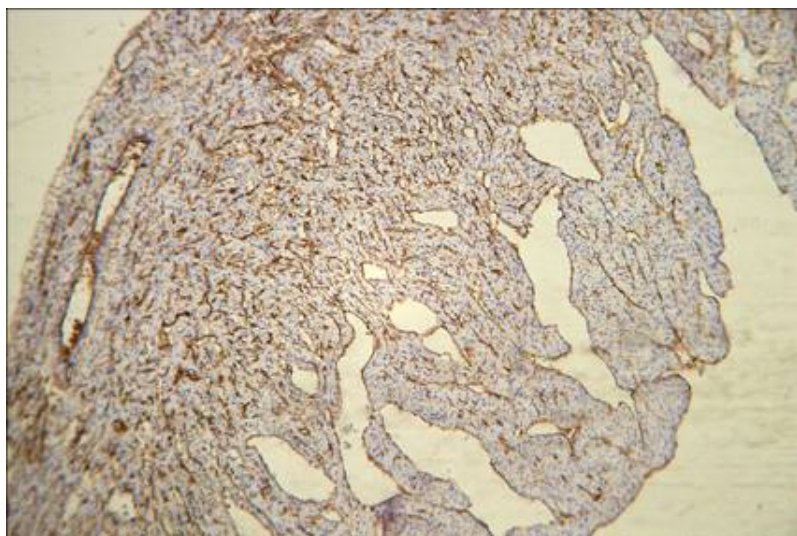


Рис. 1. Міокард лівого шлуночка серця ембріона людини на 6–7-му тижні кардіогенезу. Реакція з маркером CD-34. Збільшення $\times 100$

Кардіоміоцити компактного міокарду мають видовжену форму з формуванням упорядкованих рядів, між якими в міжклітинних просторах зустрічаються первинні судини у вигляді тонкостінних ендотеліальних трубок, оточених клітинами мезенхіми. Міокард складався із різних за формою, розмірами клітинних скупчень та шарів. Зовнішній шар компактного міокарду був представлений щільно упакованими видовжено-овальної форми клітинами, внутрішній шар — пухко розташованими округлої форми серцевими міоцитами. У товщі компактного міокарду в цьому періоді зустрічалися скупчення ендотеліальних клітин, які формували первинні ланки мікроциркуляторного русла. Швидкі темпи розвитку компактного міокарду (збільшення кількості клітин, шарів) були пов'язані з підвищеною проліферативною активністю.

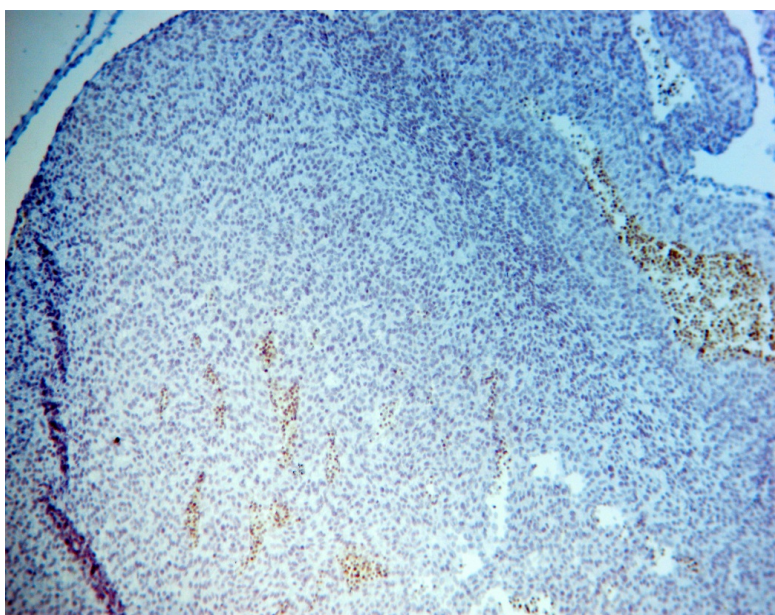


Рис. 2. Міокард лівого шлуночка серця ембріона людини на 8-му тижні кардіогенезу. Реакція з маркером Prox-1. Збільшення $\times 100$

8-мий тиждень ембріонального розвитку характеризується активними процесами васкуляризації компактних відділів передсердь та шлуночків серця. Поряд з ущільненням міжтрабекулярних просторів в результаті потовщення та компактизації трабекул навколо первинних судин починають утворюватися клітинні оболонки за рахунок диференцировки та перебудови оточуючих мезенхімних клітин. Навколо деяких судин наявна експресія гладко-м'язового актину (α -SMA), що може свідчити про майбутню артеріальну спеціалізацію цих судинних утворень. В кінці 8-го тижня в субепікардальному просторі нами були ідентифіковані скупчення ендотеліальних клітин, які за своїми характеристиками відрізнялися від артеріальних та

венозних. Реєстрація експресії білка Prox-1 в цих клітинах дозволила нам віднести їх до майбутнього лімфатичного ендотелію (рис. 2).

Схема міокардіально-судинних перетворень в ембріональному серці представлена на рис. 3.

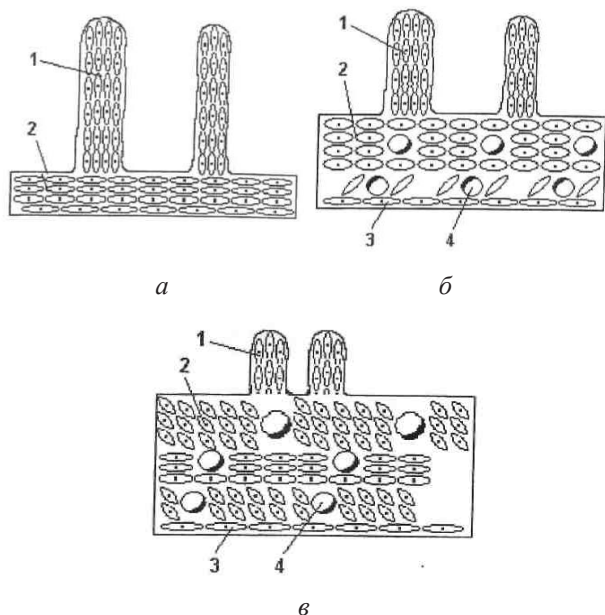


Рис. 3. Схема міокардіально-судинних перетворень в стінці серця на етапах ембріонального кардіогенеза:

- a* – 5 тиждень ембріонального періоду;
- б* – 6 тиждень ембріонального періоду;
- в* – 7–8 тиждень ембріонального періоду; 1 – м'язові трабекули; 2 – шар компактного міокарду;
- 3 – епікард; 4 – первинні судини

В ембріональному періоді нами були також простежені просторові відмінності щодо впорядкованості та щільності м'язових трабекул. Найбільше співвідношення між трабекулярним та компактним міокардом було характерно для верхівки, задньої та бічної стінок лівого шлуночка. Простежені загальні закономірності клітинно-тканинних перетворень в серці мали регіональні особливості у вигляді просторових та часових відмінностей динаміки проліферації, диференціації кардіоміоцитів та інтраміокардіальних ланок мікроциркуляторного руслу.

5. Висновки

Морфологічна спеціалізація судинних ланок вінцевої системи в ембріональному періоді має зако-

номірну послідовність з набуттям спочатку венозних властивостей та паралельною диференціацією артеріальних структур. Після артеріо-венозної детермінації починається етап лімфатичної спеціалізації венозних ендотеліальних клітин з формуванням лімфатичної ланки вінцевої судинної системи.

Література

1. Harris, I. S. Development of the Endocardium [Text] / I. S. Harris, B. L. Black // *Pediatric Cardiology*. – 2010. – Vol. 31, Issue 3 – P. 391–399. doi: 10.1007/s00246-010-9642-8
2. Cui, C. Embryogenesis of the first circulating endothelial cells [Text] / C. Cui, M. B. Filla, E. A. V. Jones, R. Lansford, T. Chevront, S. Al-Roubaie, et al. // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, Issue 5. – P. e60841. doi: 10.1371/journal.pone.0060841
3. Ciszek, B. The anatomy of the cardiac veins in mice [Text] / B. Ciszek, D. Skubiszewska, A. Ratajska // *Journal of Anatomy*. – 2007. – Vol. 1, Issue 211. – P. 53–63. doi: 10.1111/j.1469-7580.2007.00753.x
4. Bearzi, C. Identification of a coronary vascular progenitor cell in the human heart [Text] / C. Bearzi, A. Leri, F. L. Monaco, M. Rota, A. Gonzalez, T. Hosoda et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2009. – Vol. 106, Issue 37. – P. 15885–15890. doi: 10.1073/pnas.0907622106
5. Red-Horse, K. Coronary arteries form by developmental reprogramming of venous cells [Text] / K. Red-Horse, H. Ueno, I. L. Weissman, M. A. Krasnow // *Nature*. – 2010. – Vol. 464, Issue 7288. – P. 549–553. doi: 10.1038/nature08873
6. Меркулов, Г. А. Курс патогистологической техники [Текст] / Г. А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 422 с.

References

1. Harris, I. S., Black, B. L. (2010). Development of the Endocardium. *Pediatric Cardiology*, 31 (3), 391–399. doi: 10.1007/s00246-010-9642-8
2. Cui, C., Filla, M. B., Jones, E. A. V., Lansford, R., Chevront, T., Al-Roubaie, S. et al. (2013). Embryogenesis of the First Circulating Endothelial Cells. *PLoS ONE*, 8 (5), e60841. doi: 10.1371/journal.pone.0060841
3. Ciszek, B., Skubiszewska, D., Ratajska, A. (2007). The anatomy of the cardiac veins in mice. *Journal of Anatomy*, 211 (1), 53–63. doi: 10.1111/j.1469-7580.2007.00753.x
4. Bearzi, C., Leri, A., Lo Monaco, F., Rota, M., Gonzalez, A., Hosoda, T. et al. (2009). Identification of a coronary vascular progenitor cell in the human heart. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (37), 15885–15890. doi: 10.1073/pnas.0907622106
5. Red-Horse, K., Ueno, H., Weissman, I. L., Krasnow, M. A. (2010). Coronary arteries form by developmental reprogramming of venous cells. *Nature*, 464 (7288), 549–553. doi: 10.1038/nature08873
6. Merkulov, G. A. (1969). Course histological techniques [Kurs patogistologicheskoy tekhniki]. Lviv: Medicine, 422.

Дата надходження рукопису 15.04.2015

Козлов Сергій Володимирович, доктор медичних наук, професор, доцент, кафедра патологічної анатомії і судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вул. Дзержинського, 9, м. Дніпропетровськ, Україна, 49000
E-mail: tanatolog.ua@mail.ru

Яковець Олена Олександрівна, здобувач, викладач, кафедра нормальної анатомії людини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вул. Дзержинського, 9, м. Дніпропетровськ, Україна, 49000
E-mail: yalenka@i.ua