**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ**

**КРИМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ С.І.ГЕОРГІЄВСЬКОГО**

**СІЛКІНА ЮЛІЯ ВАЛЕРІЇВНА**

УДК 611.127:57.017.22:514.113:57.065

**МОРФОГЕНЕЗ ПРОСТОРОВОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ МІОКАРДУ В ФІЛОГЕНЕТИЧНОМУ АСПЕКТІ**

**14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія**

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Сімферополь – 2005

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано у Дніпропетровській державній медичній академії МОЗ України

**Науковий керівник:**
доктор медичних наук, професор Твердохліб Ігор Володимирович, Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України, завідувач кафедри гістології.

**Офіційні опоненти:**
доктор медичних наук, професор Троценко Борис Вікторович, Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського МОЗ України, професор кафедри гістології, цитології та ембріології;
доктор медичних наук, професор Волков Костянтин Степанович, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології.

**Провідна установа:**
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця МОЗ України (м. Київ), кафедра гістології, цитології та ембріології.

Захист відбудеться “\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2005 року о \_\_\_\_\_\_годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 52.600.02 при Кримському державному медичному університеті ім. С.І.Георгієвського (95006, м. Сімферополь, бульвар Леніна, 5/7).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Кримського державного медичного університету ім. С.І.Георгієвського (95006, м. Сімферополь, бульвар Леніна, 5/7).

Автореферат розісланий “\_\_\_\_\_”\_\_\_\_\_\_\_\_2005 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради, кандидат медичних наук, доцент     Новіков М.Ю.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

НН – Hamburger, Hamilton.

ПСТ примітивної серцевої трубки

Підписано до друку

Формат 60x84 1/16

Папір офсетний. 1,25 ум. др. а.

Тираж 100 прим. Замовлення №

Віддруковано в видавничому центрі ДДМА.

49044 пл. Жовтнева, 14.

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

Актуальність теми. Міокард являє собою складну систему, яка поєднує різні тканинні компоненти між собою не тільки з точки зору їх просторового сусідства, але і з точки зору забезбечення морфофункціонального зв’язку між ними. Формування цієї системи в процесі кардіогенезу має багатоетапний характер і визначення загальних закономірностей розвитку міокарду є однією з центральних задач сучасної біології та медицини.

Формування загальної структури міокарду в різні вікові періоди людини, а також інших об’єктів описано в ряді робіт (Козлов В.А., 1989; Твердохліб І.В. та ін., 2002; Шаторна В.Ф., 2002; Sedmera D. та ін., 1997; Gittenberg А. та ін., 1994). Визначені біохімічні, гістохімічні, функціональні показники міокарду як у період ембріонального розвитку представників різних класів хребетних (Твердохлеб И.В., 1996; Moorman A., Lamers W., 1994), так і після народження (Непомнящих Л.М., 1981; Хлопонин П.А., 1971; 2003). За допомогою молекулярно-біологічних та імуногістохімічних методів досліджень вивчені події, пов’язані з формуванням кардіогенної зони, утворенням трубчастого серця, подальшими трансформаціями камер серця (Moorman A. та ін., 1994, 2003; Wessels A. та ін., 2000; Brand T. та ін., 2002; Kirby M.L., 2002). Визначені генні механізми регулювання процесів кардіогенезу (Yost H.J., 1990; Fu Y. та ін., 1998; Wilson C. та ін., 1986; Pandur P., 2002; Bruneau B.G., 2002; Ballarino M. та ін., 2004). З використанням електронної мікроскопії описана волоконна організація серцевого м’яза на етапах його розвитку (Волков В.И., 1982; Румянцев П.П., 1982; Шпонька И.С., 1996). Описаний хронологічний алгоритм анатомічних та ультраструктурних перебудов елементів коронарного русла протягом онтогенезу (Стебельский С.Е. та ін., 1979; Стеченко Л.А., 1990; Бобрик И.И., Шевченко Е.А., Черкасов В.Г., 1991; Шпонька И.С., 1991). Значну увагу привернуло проведення тривимірної реконструкції серця (Маковецкий В.Д. та ін., 1979; McLean M. та ін., 1989; Whiten S. та ін., 1998; Hanley P.J. та ін., 1999; Rosenthal J. та ін., 2004), але воно стосувалось його форми або поверхні без урахування будови внутрішніх клітинних та надклітинних комплексів міокарду. Оскільки більшість морфологічних особливостей різних тканинних компонентів серцевого м’яза на етапах онтогенезу вивчалась переважно ізольвано один від одного, постає необхідність дослідження структурно-функціональної взаємодії між елементами міокарду з точки зору їх просторових взаємовідношень в процесі гістогенезу. Потребують подальшого аналізу топологічні особливості тривимірної організації міокарду.

Все вищевикладене свідчить про доцільність аналізу подій, що стосуються формування гістоархітектурних зв’язків між тканинними компонентами міокарду протягом онтогенезу у різних представників хребетних з проведенням їх порівняльної характеристики та визначенням принципово важливих подій в процесі становлення дефінітивної просторової організації міокарду.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу проведено в межах науково-дослідної роботи кафедр гістології та патологічної анатомії Дніпропетровської державної медичної академії “Аналіз механізмів морфогенезу серцево-судинної системи і патогенезу різних патологічних процесів у серці людини та експериментальних тварин” (номер державної реєстрації 0100U002178).

Мета та завдання дослідження. Метою роботи було вивчення формування гістоархітектури міокарду з точки зору просторової взаємодії між його структурними компонентами, а також визначення закономірностей формування архітектоніки міокарду в філогенетичному аспекті.

Відповідно до поставленої мети необхідно вирішити такі завдання:

1. Вивчити механізми формування гістоархітектоніки міокарду, що розвивається, у представників різних класів хребетних, в тому числі у людини.
2. Оцінити характер, ступінь ускладнення просторових взаємовідношень між структурними компонентами міокарду на етапах морфогенезу серця.
3. Визначити філогенетичну закономірність формування просторової взаємодії між структурними компонентами міокарду.
4. Створити моделі тривимірної організації ділянок міокарду всіх досліджених об’єктів на етапах кардіогенезу.

Об‘єкт дослідження – формування гістоархітектури міокарду земляної жаби, курки, щура, людини на етапах онтогенетичного розвитку.

Предмет дослідження – розвиток взаємної просторової організації тканинних компонентів міокарду на етапах кардіогенеза.

Методи дослідження: гістологічні (загальна морфологічна оцінка стану тканинних компонентів), імуногістохімічні (вивчення інтенсивності проліферації клітин, розподілення ендотелію та клітин мезенхімного походження), електронно-мікроскопічні (вивчення ультраструктурних особливостей клітин і міжклітинних структур), морфометричні (кількісна оцінка морфологічних змін), біометричні (варіаційний та порівняльний аналіз морфометричних даних), тривимірне моделювання (створення просторових моделей компонентів міокарду).

Наукова новизна одержаних результатів. У виконаній роботі вперше комплексно вивчені процеси формування просторової організації міокарду з точку зору архітектурної взаємодії клітинних груп; визначена гістоморфологічна характеристика архітектурних трансформацій клітин та клітинних груп міокарду; проаналізована динаміка морфометричних показників структурних компонентів міокарду протягом кардіогенезу; вивчений процес міграції, проліферації та просторових перебудов клітин-похідних з епікарду з встановленням їхньої ролі у формуванні системи гемомікроциркуляції серцевого м’яза; визначені принципові кроки формування компактної структури міокарду. Встановлено, що ендотелій, який вистиляє синусоїдні простори, редукується у процесі компактизації трабекулярних пластин і не є джерелом ендотелію гемомікроциркуляторного русла. Визначена морфофункціональна, морфометрична та хронологічна характеристики CD-34-позитивних, проліферуючих (Кі-67-позитивних) та віментин-позитивних клітин, що входять у склад міокарду. Нами вперше встановлено існування синусоїдних просторів зі „сліпим” ходом, функціональна роль яких полягає у формуванні системи резервуарних порожнин. Вперше створені тривимірні моделі стінки раннього ембріонального серця на етапах кардіогенезу у представників різних класів хребетних. Результати роботи доповнюють та уточнюють відомості, що стосуються питань формування гістоструктури міокарду.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані у роботі дані щодо основних подій формування просторової організації міокарду в аспекті взаємодії між його структурними компонентами є важливими для удосконалення теоретичної бази в питаннях з’ясування механізмів розвитку дизморфій та дизембріогеній серця. Одержані результати можуть бути використані у навчальному процесі на кафедрах гістології з ембріологією, нормальної анатомії, а також при подальших експериментальних та теоретичних ембріональних дослідженнях. Використання методу тривимірної реконструкції можливе як при морфологічних та ембріологічних дослідженнях, так і в інших галузях медицини та біології.

Особистий внесок здобувача. Результати, викладені в дисертаційній роботі, отримано здобувачем особисто або за безпосередньої участі при виконанні імуногістохімічних методик та тривимірного моделювання. При проведенні та аналізі даних імуногістохімічних досліджень автор отримувала консультації керівника імуногістохімічної лабораторії діагностичного центру Дніпропетровської державної медичної академії, доктора медичних наук, професора Шпоньки І.С. Дисертант самостійно провела пошук і проаналізувала теоретичні та експериментальні дані дослідних робіт вітчизняних та зарубіжних вчених за темою дисертації. Автором розроблено програму вирішення поставлених задач, інтерпретовано отримані результати, сформульовано основні висновки, здійснено статистичну обробку даних та аналіз її результатів, підготовлено до друку основні матеріали за результатами дисертаційної роботи. Аналіз та обговорення результатів досліджень проведено спільно з науковим керівником - доктором медичних наук, завідуючим кафедрою гістології, професором Твердохлібом І.В.

Апробація результатів досліджень. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на ІІІ Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (Київ, 2002), на I та II наукових морфологічних конференціях „Карповські читання” (Дніпропетровськ, 2004, 2005), міжнародному науковому конгресі „Carol Davila” (Бухарест, 2002), науково-практичній конференції „Гістологія на сучасному етапі розвитку” (Тернопіль, 2004), VIII міжнародній науково-практичній конференції “Наука і освіта 2005” (Дніпропетровськ, 2005). Матеріали дисертаційної роботи впроваджені у наукову роботу науково-дослідного центру Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова, у навчальний процес та наукову роботу кафедр гістології, цитології, ембріології Луганського державного медичного університету, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, Кримського державного медичного університету ім. С.І.Георгієвського, Запорізького державного медичного університету, кафедри нормальної анатомії Запорізького державного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 4 статті у фахових наукових журналах (3 в моноавторстві) та 8 тез доповідей у збірках наукових конференцій; отримано 6 деклараційних патентів України на винахід.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація містить такі розділи: вступ, аналітичний огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень (включає 4 розділи власних досліджень), аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, рекомендації щодо практичного використання, список використаної літератури. Дисертацію викладено на 184 сторінках машинописного тексту і проілюстровано 77 рисунками та 16 таблицями. Список цитованої літератури налічує 238 найменувань.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

Матеріали і методи дослідження. У дослідженні використано серця чотирьох об’єктів: земляної жаби, курки, щура та людини. Досліджено 123 личинки земляної жаби від 29 до 54 стадії розвитку, а також 18 молодих і зрілих жаб; 139 ембріонів курки від 17 до 46 стадії інкубаційного розвитку і 44 об’єкти від вилуплення до зрілого віку; 82 ембріона щура від 11 до 21 доби пренатального розвитку і 40 щурів від народження до зрілого віку; 50 ембріонів людини від 4 до 8 тижня гестації і 12 плодів людини до 12 тижня пренатального розвитку. Усього було досліджено 508 об’єктів.

У роботі був використаний комплекс методів гістологічного, імуногістохімічного, ультраструктурного, морфометричного, біометричного аналізу, а також комп’ютерне тривимірне моделювання. Для візуалізації основних клітинних і тканинних компонентів міокарду проводили виготовлення серійних гістологічних і напівтонких зрізів з наступним фарбуванням мікропрепаратів гематоксиліном-еозином, залізним гематоксиліном Гейденгайна, альциановим голубим, за Ван-Гізоном, за Малорі-Слінченком, метиленовим синім - азуром II - основним фуксином. Для ультраструктурного дослідження використовували метод електронної мікроскопії з використанням електронного мікроскопу ЕМВ-100Б при прискорюючій напрузі 75 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 20000. У цілому, електронно-мікроскопічне дослідження проводили за схемою, запропонованою В.Я.Карупу (1984). Оцінку ультраструктурних особливостей кардіоміоцитів, ендотеліоцитів і міжклітинних структур проводили за оригінальними методиками (деклараційні патенти України № 59109 і № 60079).

Для вивчення процесів формування презумптивного судинного русла міокарду у ембріонів та плодів людини використовували цитоспецифічний маркер ендотелію CD-34, який накопичується в цитоплазмі ендотеліальних клітин (Garlanda C. та ін., 1997). Використання віментину проводили для визначення мезенхімних клітин та їх похідних – ендотеліоцитів, гладких міоцитів, фібробластів, перицитів (Balsoni G. та ін., 2000). Використання моноклональних антитіл Кі-67 (МІВ-1), що ідентифікують ядерний антиген, проводилося з метою дослідження проліферативної активності клітин міокарду. Імуногістохімічні реакції проводили на гістологічних зрізах з використанням відповідних первинних антитіл (DAKO) та системи візуалізації LSAB (Labelled Streptavidin-Biotin). Об’єктом слугували серця ембріонів та плодів людини від 5 до 12 тижня пренатального періоду розвитку. Морфометричні дослідження грунтували на загальних положеннях, що викладені Г.Г.Автанділовим (1980; 1990) і Г.С.Кір’якуловим з співавт. (1990). Відповідно до мети і задач дослідження був проведений кількісний аналіз діаметру, довжини і об’єму кардіоміоцитів, їх мітотичного індексу, діаметру, довжини і об’єму трабекул, відносного об’єму кардіоміоцитів і гемокапілярів, товщини трабекулярного, компактного міокарду і кардіогелю, діаметру гемокапілярів і дистанції дифузії. Після проведення імуногістохімічних реакцій на зрізах серця людини визначали індекс проліферації кардіоміоцитів, відносний об’єм віментин-позитивної тканини і ендотелію. У всіх об’єктів морфометрія проводилася на зрізах, орієнтованих перпендикулярно до поздовжньої вісі серця. Аналіз морфометричних показників міокарду шлуночків серця проводили в базальній, проміжній та апікальній частинах окремо правої та лівої камер. Кількісний аналіз міокарду передсердь проводили окремо для правої та лівої камер.

Проведення тривимірного моделювання ділянок стінки міокарду проводили за оригінальною методикою (деклараційний патент Украіни №68592) після фотографування 25-40 серійних обраних для моделювання ділянок міокарду з подальшою комп’ютерною обробкою зображень з використанням комп’ютерного пакету програм „Align”, „Trace” та “3ds max 5”.

Біометричну обробку кількісних даних за кожним вивченим параметром проводили з попереднім визначенням необхідного об'єму вибірки і графічним аналізом статистичного розподілення величин. Відповідність отриманих (емпіричних) розподілень якому-небудь з стандартних розподілень оцінювали за допомогою критерію J Ястремського. Морфометричні дані зазнавали статистичної обробки, для обчислення яких використовували стандартні формули (Лакин Г.Ф., 1990). Визначення достовірності відмінностей між вибірками проводили з урахуванням критерію t Стьюдента. Під час проведення біометричного аналізу отриманих результатів розрахунки виконували за допомогою ліцензійної програмної оболонки Microsoft®Excel 2002.

Результати дослідження та їх обговорення. Формування гістоархітектури міокарду у всіх вивчених об’єктів починалось від моменту утворення перших трабекул. З цього моменту до появи перших елементів презумптивного судинного русла (у курки вона припадала на 4,5 добу, у щура – на 15 добу ембріонального періоду розвитку, а у людини – на 4 тиждень пренатального періоду розвитку) зміни гістоархітектоніки міокарду стосувались динаміки морфометричних показників кардіоміоцитів, встановлення ними специфічних зв’язків між собою та з іншими групами клітин, перетворень їх взаємної орієнтації. Поява перших трабекул мала місце у всіх об’єктів у зоні презумптивного шлуночка. Напрямок росту трабекул співпадав у всіх вивчених об’єктів і характеризувався як радіальний, при цьому трабекула не мала вільних кінців, прикріплюючись до різних ділянок внутрішньої поверхні шлуночку. Підтвердженням цього є результати досліджень з використанням ретровірусу СXL (Mikawa T., Eralp I., 1999), які вказали, що клони кардіоміоцитів орієнтовані вертикально та мають конусоподібну форму, при цьому подібні конуси, які складаються з одного клону, пронизують всю товщу міокарду. Динаміка зростання довжини трабекул найбільш стрімкою була у курки у порівнянні з іншими вивченими представниками хребетних: за означений період цей параметр зростав у лівому шлуночку у 5,2 рази (р?0,05), у правому – у 5,9 рази (р?0,05). Подібна нерівномірність зростання довжини трабекул була характерною також для щура і людини. У жаби нерівномірність лінійних параметрів трабекул була характерною для різних зон шлуночку. При аналізі динаміки товщини трабекул з’ясувалось, що у щура і людини зростання цього параметру було більш активним (у 1,8 рази у лівому шлуночку та у 2,4 рази у правому) при порівнянні з куркою та жабою ( в 1,7 та 1,5 рази у відповідних камерах).

При аналізі результатів імуногістохімічних досліджень серця ембріонів людини виявилося, що в даний період найбільшу проліферативну активність мали кардіоміоцити компактного міокарду (в тому числі в зонах базальних ділянок трабекул) і найменшу - в трабекулярному міокарді. Ці дані співпадали з картиною, що спостерігалась у серці щура, яка вказувала на мінімальну кількість мітотичних фігур кардіоміоцитів у всіх ділянках трабекули окрім базальної. Поєднання низької проліферативної активності кардіоміоцитів основної частини та верхівки трабекул з порівняно високою швидкістю зростання товщини трабекулярного міокарду вказує на те, що збільшення об’єму трабекул відбувалось за рахунок кардіоміоцитів базальної ділянки трабекул.

Товщина компактного та трабекулярного шарів у всіх вивчених об’єктів мала різну активність зростання. У жаби товщина компактного шару як шлуночка, так і передсердь залишалась незмінною з моменту утворення і до періоду зрілого серця, маючи вигляд пластинки, що складалась лише з одного ряду кардіоміоцитів. Це принципово відрізняло її від курки, щура та людини, у яких компактний міокард мав виразну динаміку стовщення. На ранніх етапах кардіогенезу зростання об’єму компактного міокарду залишалось уповільненим, але з появою протокапілярного русла воно різко прискорювалось. Компактний міокард передсердь до появи перших протокапілярів також мав незначне зростання у ембріонів курки, щура та людини. За нашими даними, збільшення товщини трабекулярного шару найбільш стрімко відбувалось у курки в зоні верхівки лівого шлуночку – лише за одну добу (від 23 НН до 27 НН стадії) показник товщини зростав в зазначеній ділянці у 8,8 рази. У інших об’єктів збільшення товщини трабекулярного шару відбувалось менш активно, однак зона домінування процесу співпадала з такою у курки.

Збільшення об’єму трабекул та утворення ними просторової сітки призводило до формування системи міжтрабекулярних просторів. Форма синусоїдів не була специфічною для будь-якого об’єкту і залежала від ступеня компактизації трабекул. Проведена нами тривимірна реконструкція ділянок серця курки та щура дозволила дослідити саме систему міжтрабекулярних просторів. Було з’ясовано характер взаємозв’язку між синусоїдами в межах однієї камери серця, який полягав у розвитку єдиної системи правого або лівого шлуночків окремими синусоїдними комплексами, які мали сполучання як з сусідніми комплексами, так і з порожниною камери. Крім того, встановлено існування “сліпих” синусоїдів, специфичності розташування яких виявлено не було. Існування подібної просторової системи міжтрабекулярних просторів констатовано у всіх вивчених об’єктів. На відміну від інших вивчених об’єктів у Rana temporaria в широких трабекулах знайдені внутрішньотрабекулярні синусоїдні відгалуження, що відходили від основного комплексу як наслідок пристосування до безсудинної системи кровопостачання.

Загальна структура синусоїдів у всіх вивчених об’єктів була схожою і включала вистелення їх ендотелієм, який був зовнішньою оболонкою трабекул. Крім того, під ендотелієм, починаючи у курки з 4,5 доби, у щура з 12 доби ембріонального розвитку та у людини з 5 тижня пренатального розвитку, з’являлись поліморфні мезенхімні клітини, повністю заселяючі кардіогель. У жаби процесу заміщення кардіогелю мезенхімними клітинами не відбувалось.

Період кардіогенезу, який охоплював події від початку формування примітивних трабекул до появи перших протокапілярів міокарду у курки, щура та людини, характеризувався не тільки змінами макроархітектури міокарду, але і динамікою ультраструктурних змін кардіоміоцитів, а також характерними змінами міжміоцитарних взаємозв’язків. В зазначений термін кардіоміоцити внаслідок високої проліферативної активності мали ознаки обмеженого диференціювання, що відбивалось у незначному зниженні ядерно-цитоплазматичного індексу, невиразності базофілії цитоплазми, повільному збільшенні кількості міофібрил. Між собою кардіоміоцити були орієнтовані невпорядковано, створюючи систему широких міжкардіоміоцитарних просторів. Подальше ущільнення кардіоміоцитів найбільш активно відбувалось у курки, що співпадало у даного об’єкту з найбільш стрімким зростанням товщини трабекулярного міокарду у порівнянні з іншими. Найбільш тривало описаний процес перебігав у Rana temporaria. Процеси диференціювання кардіоміоцитів у міокарді Rana temporaria, курки, щура та людини в даний період проходили швидше в шлуночках, ніж у передсердях. Поява ранньої асинхронності розвитку кардіоміоцитів різних відділів серця підкреслює різноспрямованість їхнього диференціювання внаслідок пред’явлення різних функціональних вимог: менш розвинутий скорочувальний апарат у міоцитах передсердь у порівнянні з кардіоміоцитами шлуночка є відображенням меншого функціонального навантаження в даний період на міокард передсердь. Поряд з тим, високі темпи ускладнення макро- та мікроархітектури серця земляної жаби в означений період пов’язані, ймовірно, зі змінами умов існування личинок, в тому числі умов функціонування серця – саме з 31 стадії вони починають активно плавати.

Отже, гістоархітектурні перетворення на початковому етапі кардіогенезу у всіх вивчених об’єктів мали спільні риси, які стосувались: зони появи перших трабекул міокарду, характеру їх орієнтації, ділянки найбільш активного зростання товщини трабекулярного міокарду, характеру стовщення компактного шару (окрім земляної жаби). Збільшення об’єму трабекул у вивчених вищих хребетних відбувалось за рахунок проліферативної активності міоцитів, які були локалізовані в базальній частині трабекул, тобто відбувався апозиційний ріст трабекул. Пізніше до такого способу зростання об’єму приєднувалась і позитивна динаміка проліферативної активності кардіоміоцитів у складі інших ділянок трабекул. Індивідуальним для кожного об’єкту були відносні строки вищезазначених змін, а також їх тривалість, яка була найменшою у курки, а найдовшою - у Rana temporaria. В зазначений період відбувався процес нерівномірного росту та диференціювання міокарду в різних відділах шлуночків і передсердь всіх досліджених об’єктів. При порівнянні гістоархітектури цих камер спостерігалася поява раннього градієнту гетероморфності міокарду як на рівні окремої ділянки стінки серця, так і на рівні різних відділів шлуночків: апікальному, інтермедіальному та базальному.

Від моменту появи перших елементів протокапілярного русла, який припадав у курки на 4,5 добу ембріонального розвитку, у щура – на 15 добу, у людини – на 4 тиждень пренатального періоду, відбувалось зростання швидкості стовщення компактного міокарду, активізація процесів диференціювання кардіоміоцитів, зростання асинхронності тканинних перебудов камер серця. У всіх вивчених об’єктів, окрім земляної жаби, поява перших протокапілярів, які містили в просвіті клітини крові, спостерігалась в субепікардіальній зоні міокарду шлуночків та передсердь. Напрямок розповсюдження протокапілярів також співпадав у всіх об’єктів і мав радіальну спрямованість.

Після аналізу проведених імуногістохімічних досліджень сердець ембріонів людини було встановлено, що віментин-позитивні клітини в міокарді, які мали спочатку тільки поодиноке розташування в субепікардіальній зоні компактного шару, через короткий період часу (1-2 доби) спостерігалися у вигляді як поодиноких маркер-позитивних клітин, так і клітинних груп в субтрабекулярному прошарку компактного міокарду. Через деякий період тяжі віментин-позитивної тканини пронизували весь компактний шар і з’являлись у міжкардіоміоцитарних просторах трабекулярного міокарду. Окрім цього, дослідження експресії маркеру CD-34 демонструвало схожу картину, вказуючи на наявність детермінованих у напрямку ендотелію мезенхімних клітин. Слід вказати на те, що ендотеліоцити, які вкривали трабекули, з одного боку мали тропність до маркеру CD-34, а з іншого - не виявляли певної реакції з маркером віментину. При цьому ендотеліоцити, що локалізовані в компактному міокарді, мітились обома маркерами. Наведені дані свідчать про різну природу трабекулярного ендотелію та ендотелію протокапілярів. Ці дані не співпадають з результатами досліджень інших авторів (Хлопонін П.А., 1975; Ratajska A. та ін., 1995), які вказували на те, що утворення судин в міокарді відбувається, зокрема, шляхом злиття міжтрабекулярних синусоїдів, вкритих ендотелієм. Підтверджують нашу думку дані (Mikawa T. та ін., 1996; 1999; Balsoni G. та ін., 2000), які вказали на позасерцеве походження ендотелію капілярів, а також неоднакові гістохімічні властивості ендотеліоцитів трабекул та компактного міокарду під час появи протокапілярів. Після аналізу результатів власних досліджень ми припускаємо, що ці дані, а також дані про накопичення віментину в міокарді ембріонів людини характеризують загальний процес міграції мезенхімоцитів епікардіального походження в напрямку до глибоких шарів компактного міокарду, після чого відбувається активна проліферація та детермінація віментин-позитивних клітин, що призводить до утворення дифузної протокапілярної сітки.

У період, окреслений подіями від появи первинних протокапілярів до ознак формування вторинного коронарного русла, у ембріональному серці курки, щура та людини відбувалась активізація стовщення компактного міокарду. У вищих хребетних стрибок зростання об’єму компактного шару співпадав за часом з появою елементів первинного протокапілярного русла на відміну від курки, у якої ці процеси не були хронологічно паралельними. З’ясований нами “неординарний сценарій” перебудови архітектури компактного міокарду у курки, який передбачає розповсюдження процесу васкуляризації компактного міокарду шлуночків та передсердь без стрімкого збільшення товщини компактного шару, свідчить про незалежність процесу васкуляризації від збільшення об’єму компактного міокарду. Крім того, це підтверджується даними (Rongish B. та ін., 1996), які вказували на те, що розповсюдження капілярів відбувається навіть при відсутності функціонального навантаження.

Протягом короткого часу (у курки та щура протягом 1-2 діб, у людини – протягом 1 тижня) відбувалось утворення значної кількості капілярних анастомозів та зміна взаємної орієнтації судин з гострокутової на паралельну, що, разом із зростанням насиченості капілярами компактного міокарду, створювало кращі трофічні умови для кардіоміоцитів, які диференціювалися. Поява тяжів ендотеліальних клітин у трабекулах на 7,5 добу ембріонального розвитку у курки, на 16 добу у щура та CD-34-позитивних клітин на 6 тижні пренатального періоду розвитку у людини формувала приорітетні умови для більш швидкого ультраструктурного диференціювання кардіоміоцитів трабекул у порівнянні з клітинами компактного шару. Крім того, при порівнянні трабекулярного шару передсердь та шлуночків, в останніх швидкість спеціалізації кардіоміоцитів була вищою. У всіх вивчених об’єктів швидкість перебудови архітектури у правому передсерді була порівняно вищою, ніж у лівому.

Міграція мезенхімних клітин у субендокардіальному напрямку відбувалась за умов наявності широких міжкардіоміоцитарних просторів. Після завершення міграції мезенхіма, детермінована в напрямку диференціювання в клітини судинної стінки, активно проліферувала та розповсюджувалась у межах компактного міокарду. Згодом цей процес відбувався і в трабекулярному шарі. На користь цих даних вказують результати досліджень групи вчених (Gittenberger-de Groot A.C. та ін., 1998; Mikawa T. та ін., 1996; 1999; Wessels A. та ін., 2000), які за допомогою імуногістохімічних методик дослідили, що клітини-похідні з епікарду (EPDC) є джерелом утворення стінки коронарних судин.

Утворення примітивних волокон, встановлення паралельної взаємної орієнтації кардіоміоцитів, а також формування ендотеліальних комплексів стає можливим тільки після завершення міграційних процесів та ущільнення кардіоміоцитів. Виключення складає міокард земляної жаби, в якому міграції мезенхіми в товщу серцевої стінки не відбувалося, однак утворення функціональних волокон кардіоміоцитів також мало місце. Цей факт дозволяє припустити, що ущільнення кардіоміоцитів, їх архітектурна перебудова, спрямована на утворення волокон, здійснюються без участі мікросудинного компоненту міокарду і є обов’язковою складовою кардіогенезу.

Термін розвитку серця, який характеризувався утворенням перших м’язових волокон та сформованого протокапілярного русла, припадаючи у курки на 7-7,5 добу інкубації, у щура - на 16 добу ембріонального розвитку, у людини – на 7 тиждень пренатального онтогенезу, супроводжувався активним утворенням трабекулярних пластин і завершувався редукцією ембріонального трабекулярного міокарду з подальшим формуванням системи вторинного гемомікроциркуляторного русла. У цей період у всіх зазначених об’єктів починалося активне ущільнення трабекул, що супроводжувалось утворенням трабекулярних пластин, зменшенням відносного об’єму синусоїдних просторів, їх редукцією з заміщенням примітивною сполучною тканиною (окрім земляної жаби). Цьому передувала поява проміжного мезенхімного шару в трабекулах, а також диференціювання в сполучнотканинному напрямку клітин, що мігрували з епікарду. Дослідження гістохімічних показників сполучної тканини в різних зонах стінки серця (Полякова В.С., 1981) показали, що субепікардіальна зона має специфічні властивості аморфної речовини прошарків сполучної тканини у порівнянні з інтрамуральною та субендокардіальною. Враховуючи це, можливо припустити, що подібну нерівномірність гістохімічних властивостей мають клітини сполучної тканини, що розвинулись із мезенхіми проміжного шару трабекул, та ті, що мігрували з епікарду. Тобто, сполучнотканинні елементи міокарду мають два джерела походження.

Утворення в зазначений період трабекулярних пластин супроводжувалося не тільки їх ущільненням та притисканням до стінки, а й ущільненням волокон кардіоміоцитів в самих пластинах за рахунок зростання ступеня їх взаємної орієнтації поряд з васкуляризацією цього шару міокарду. Ущільнення пластин трабекул призводило до різкого зростання товщини компактного міокарду та пропорційної редукції ембріонального трабекулярного міокарду. Найбільш стрімко описані події відбувались у щура ( від 16 до 18 доби ембріонального розвитку) (рис. 1), найбільш повільно – у людини (від 5 до 10 тижня пренатального періоду онтогенезу) (рис. 2). У земляної жаби ущільнення трабекул супроводжувалось лише утворенням їх пучків, які не передбачали зрощення та упакування трабекул зі збереженням ендотеліального вистелення примітивної системи мікроциркуляції через синусоїди внаслідок відсутності елементів вторинного гемомікроциркуляторного русла (рис. 3).

На користь переважаючої ролі зростання товщини компактного міокарду в зазначений період за рахунок саме ущільнення трабекулярних пластин свідчить низький у цей час індекс проліферації кардіоміоцитів у компактному міокарді і невідповідність його рівня темпу стовщення компактного шару. Ми припускаємо, що результати досліджень, які стосувалися визначення розповсюдження поляризованого світла в волокнах з різною орієнтацією (Ohayon J. та ін., 1999), підтвердили нашу думку, вказавши на те, що систолічна напруга розповсюджується не по безперервній гелікоїдній сукупності волокон, а по окремим пластинам з тенденцією до поперечного зміщення. Припущення відносно того, що компактний міокард утворюється шляхом щільного упакування пластин трабекул і, як наслідок, набуває анізоморфних властивостей у різних ділянках стінки серця, а не є результатом злиття кардіоміоцитів у гомогенну структуру, підтверджуються результатами досліджень групи вчених (Прокопчук В.С., Гречко И.И., 1981; Jouk P.S. та ін., 1995), які вказували на існування структурно-функціональних одиниць міокарду, що мають певний період повторюваності; на поздовжніх зрізах вони співпадають за фазою та розрізняються просторовою орієнтацією волокон кардіоміоцитів. Період їх повторюваності змінюється в радіальному напрямку, в результаті чого виникають описані авторами “веєроподібні м’язові поля”. Можливо припустити існування подібних структурно-функціональних одиниць і у жаби, беручи на увагу різні тинкторіальні властивості трабекул та їх функціональне призначення.



Рис. 1. Динаміка товщини трабекулярного міокарду шлуночків щура в ембріональний період.



Рис. 2. Динаміка товщини трабекулярного міокарду шлуночків людини в пренатальний період.



Рис. 3. Динаміка товщини трабекулярного міокарду шлуночку жаби.

Зрілий міокард земляної жаби характеризувався наявністю системи ущільнених трабекул, трабекулярних пучків та міжтрабекулярних синусоїдних комплексів, а також відсутністю типового інтерстицію між волокнами кардіоміоцитів. В шлуночку, як і в передсердях, зберігалась невелика кількість ендокринних кардіоміоцитів, доцільність знаходження тут яких досліджена групою авторів (Reiser P.J., Lindley B.D., 1990; Small E.M., Krieg P.A., 2000), які вказують на роль серцевих гормонів у необхідності кардіоміоцитів жаби зберігати адекватну скорочувальну спроможність в умовах різних температур тіла. Тобто, поява атипових клітин у міокарді шлуночку земляної жаби обумовлена пристосуванням серця до умов існування організму.

Міокард курки мав ознаки дефінітивного після з 14 доби з моменту вилуплення. У щура активні зміни архітектури міокарду відбувались до 30 доби постнатального періоду розвитку. У зазначених об’єктів зрілий міокард представляв собою компактну структуру, яка складалась з широко анастомозуючих волокон кардіоміоцитів, розділених між собою пучками сполучної тканини різної товщини. Орієнтація гемокапілярів відносно поздовжньої вісі волокон зберігалась як паралельна. Кількість капілярних анастомозів в зрілому серці істотно не відрізнялася від рівня, встановленого у попередній термін. Ми припускаємо, що їхня кількість значно не збільшується в процесі росту серця, але за рахунок активного поздовжнього росту кардіоміоцитів відбувається зростання відстані між капілярними анастомозами, тобто видовження просторової капілярної сітки загалом. Дослідження з використанням тривимірної візуалізації структур в імунофлюоресцентному мікроскопі (Hanley P.J. та ін., 1999) показали, що колагенові волокна ендомізію обмежують надмірне розтягування саркомеру м’язового волокна в період систоли. Можливо припустити, що подібна фіксація стосується і стінки капіляру, а утворюєма стійка структурна організація описаного локусу обмежує, на наш погляд, процеси неоваскулогенезу.

Зрілий міокард передсердь у всіх досліджених об’єктів мав таку ж загальну архітектуру, яка описана в шлуночках. Він складався з компактного міокарду, який був представлений одним рядом кардіоміоцитів у земляної жаби, а в інших об’єктів мав коливання товщини на різних ділянках. Більш виразна поліморфність кардіоміоцитів у правому передсерді порівняно з лівим була характерна для всіх досліджених об’єктів.

Таким чином, проведені дослідження морфогенезу просторової організації міокарду у представників трьох класів хребетних, в тому числі у людини, дозволяють стверджувати, що відмінності механізмів трансформації міокарду є проявами класової належності дослідженого об’єкту. Водночас, схожість основних процесів перебудови гістоархітектури свідчить про існування еволюційного зв’язку між класами та філогенетичної закономірності у становленні дефінітивної структури серця у досліджених об’єктів.

**ВИСНОВКИ**

У дисертації викладені узагальнені дані щодо процесу формування просторової організації міокарду амфібій, птахів та ссавців, в тому числі людини; визначені основні кроки архітектурних трансформацій тканинних компонентів міокарду в аспекті їх просторового взаємозв’язку; наведено нове вирішення питання тривимірної реконструкції структури серця. Отримані результати можуть слугувати основою для подальших експериментальних досліджень в галузі морфології та кардіоембріології.

1. Просторова трансформація міокарду починається з появою примітивних трабекул в області презумптивного шлуночку у Rana temporaria на 29 стадії личинкового розвитку, у курки – на 2,5 добу ембріонального розвитку, у щура – на 11,5 добу пренатального періоду розвитку та у людини на 4 тижні гестації, супроводжуючись зростанням кількості та об’єму кардіоміоцитів і, відповідно, трабекул, зміною характеру просторових взаємовідношень між трабекулами, наслідком чого є їх ущільнення та утворення системи синусоїдів. У серці людини накопичення маркеру Кі-67 в міокарді шлуночків мало найбільші показники на 4 тижні, в передсердях – протягом 4-6 тижнів пренатального розвитку.
2. На ранніх етапах кардіогенезу у ембріонів курки, щура та людини виявляється гетероморфність будови міокарду, що визначається на рівні його шарів, різних ділянок та відділів серця, а також на рівні індивідуальної трабекули. У Rana temporaria кардіоміоцити у складі трабекул мають різні тинкторіальні властивості, що виявляється після завершення метаморфозу. Найбільша інтенсивність проліферації кардіоміоцитів міокарду земляної жаби спостерігається від 31 до 33 стадії розвитку. Система міжтрабекулярних просторів складається з окремих комплексів, що мають сполучання з порожниною серця. Частина комплексів має синусоїди зі сліпим ходом, що виконують функцію резервуарних порожнин.
3. Від 4 доби ембріонального розвитку у курки, від 12 доби пренатального розвитку щура та на 5 тижні гестації людини у складі трабекул міокарду виявляється проміжний шар, який містить мезенхімні клітини, а з 5,5, 16 доби та 6 тижня відповідно в інтратрабекулярному міокарді визначаються тяжі ендотеліальних клітин, що походять з епікарду та є джерелом формування ендотелію коронарного русла. В міокарді Rana temporaria описаних подій не відбувається з причини формування безсудинної системи мікроциркуляції.
4. Міграція мезенхімних клітин з епікарду між кардіоміоцитами компактного міокарду у ембріонів курки, щура та людини забезпечує утворення протокапілярів на 4,5 добу, 15 добу ембріонального розвитку та на 5 тижні гестації відповідно. У міокард трабекул ці клітини мігрують пізніше. Мезенхімні клітини даного походження є єдиним джерелом утворення епітеліальних та сполучнотканинних елементів судинної стінки. Поява CD-34-позитивних клітин в інтратрабекулярному міокарді серця людини відбувається пізніше порівняно з компактним шаром. Віментин-позитивні та CD-34-позитивні клітини в структурі компактного міокарду з’являються паралельно. Обидві популяції клітин мають походження з епікарду.
5. Компактизація стінки серця відбувається шляхом ущільнення та об’єднання трабекул у пластини, які притискаються до компактного шару міокарду та набувають неоднакової просторової орієнтації у стінці правого та лівого шлуночків. Синусоїдні простори та ендотелій, яким вони вистелені, проходять етап слощення і редукції, а мезенхіма проміжного шару трабекул перетворюється на прошарки сполучної тканини, що відмежовують між собою пластини.
6. Основні події процесу формування гістоархітектоніки міокарду завершуються у Rana temporaria після завершення метаморфозу. Трабекули зрілого міокарду мають специфічні морфологічні ознаки в залежності від локалізації у відділах серця. Єдиною системою мікроциркуляції протягом усього онтогенезу залишаються щілиноподібні синусоїди, які розташовані між ущільненими трабекулами, а також пронизують трабекулярні пучки. Завершення морфологічних перетворень архітектури міокарду відбувається у земляної жаби до 1 року життя, у курки – в перший тиждень після вилуплення, у щура – до 30 доби постнатального розвитку.

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Результати дослідження процесів формування просторової організації міокарду дозволяють розширити відомості про архітектурні перетворення міокарду в аспекті взаємної орієнтації різних його тканинних компонентів на етапах кардіогенезу у представників різних класів хребетних. Ці дані можливо впроваджувати у навчальний та науковий процеси на кафедрах гістології, ембріології, в роботу науково-дослідних лабораторій, що займаються питаннями кардіогенезу, а також можуть бути використаними при ембріологічних дослідженнях.
2. Дані, отримані в ході дослідження, можливо використовувати при подальшому розгляді питань, що стосуються розвитку та трансформації різних тканинних складових серця. Крім того, отримані дані доповнюють інформаційний блок-еталон нормального розвитку міокарду, що може бути використаний для вивчення патології формування гістоархітектури.
3. Методика тривимірної реконструкції біологічних тканин може бути використана для створення моделей інших структур та органів як в процесі їхнього розвитку, так і в дефінітивному стані.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Сілкіна Ю.В. Гістоархітектоніка міокарду на етапах кардіогенезу у Rana temporaria // Медичні перспективи.- 2004.- Т.IX, №3.- С.29-32.
2. Сілкіна Ю.В. Розвиток просторової організації м’язового та судинного компонентів міокарда в онтогенезі щура і людини // Актуал. пробл. сучасн. мед.: Вісн. Укр. мед. стомат. акад.- 2004.- Т.4, №2.- С.23-26.
3. Сілкіна Ю.В. Формування та онтогенетичні перетворення трабекулярного міокарду в онтогенезі курки // Вісник морфології.- 2004.- Т.10, №2.- С.329-331.
4. Горєлова Н.І., Сілкіна Ю.В. Гістогенетичні процеси в ранньому кардіогенезі людини // Вісник проблем біології і медицини.- 2004.- №4.- С.78-84. (Автором проведений аналіз отриманих даних, викладений фрагмент стосовно морфогенезу архітектури міокарду шлуночків та передсердь, визначені загальні висновки).
5. Пат. №59108 А Україна, МКІ 7 А61В5/02. Спосіб визначення перфузійної здатності капілярів міокарда / Дніпропетровська державна медична академія, рішення про видачу патенту України за заявкою № 2003010604; Заявл.23.01.03; Опубл.15.08.03. Промислова власність. Офіційний бюлетень.- 2004.- № 8.- 7 с.
6. Пат. №59109 А Україна, МПК 7 А61В5/02. Спосіб визначення стереометричних характеристик ультраструктур клітин / Дніпропетровська державна медична академія, рішення про видачу патенту України за заявкою № 2003010606; Заявл.23.01.03; Опубл.15.08.03. Промислова власність. Офіційний бюлетень.- 2004.- № 8.- 7 с.
7. Пат. №60078 А Україна, МПК 7 А61В5/02. Спосіб визначення енергетичного метаболізму міокарда / Дніпропетровська державна медична академія, рішення про видачу патенту України за заявкою № 2003010603; Заявл.23.01.03; Опубл.15.09.03. Промислова власність. Офіційний бюлетень.- 2004.- № 9.- 9 с.
8. Пат. №60079 А Україна, МПК 7 А61В5/02. Спосіб ультраструктурної оцінки ефективності транскапілярного обміну в міокарді / Дніпропетровська державна медична академія, рішення про видачу патенту України за заявкою № 2003010607; Заявл.23.01.03; Опубл.15.09.03. Промислова власність. Офіційний бюлетень.- 2004.- № 9.- 9 с.
9. Пат. №68592 А Україна, МПК 7 А61В5/00. Спосіб підготовки біологічного матеріалу до тривимірної реконструкції / Дніпропетровська державна медична академія, рішення про видачу патенту України за заявкою № 2003087527; Заявл.11.08.03; Опубл.16.08.04. Промислова власність. Офіційний бюлетень.- 2004.- № 8.- 5 с.
10. Пат. №69727 А Україна, МПК 7 А61В5/02. Спосіб визначення лізосомальної активності біологічної тканини / Дніпропетровська державна медична академія, рішення про видачу патенту України за заявкою № 20031110662; Заявл.25.11.03; Опубл.15.09.04. Промислова власність. Офіційний бюлетень.- 2004.- № 9.- 7 с.
11. Твердохліб І.В., Козлов В.О., Шпонька І.С., Крамар С.Б., Сілкіна Ю.В., Терещенко Н.М., Бондарєва В.О., Ашихмін А.В., Жадан О.І., Маєр Г.В. Складові гістогенезу у розвитку міокарда: кількісний та інформаційний аналіз в онто- та філогенетичному аспектах // Наукові праці III національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України.- Київ, 2002.- С.310-311. (Автором самостійно проведений аналіз отриманих результатів відносно розвитку міокарду в філогенетичному аспекті).
12. Silkina Yu.V., Tverdokhleb I.V., Ashihmin A.V., Mayer A.V. Mechanisms of microcirculation in the mammals embryo heart // Міжнародний конгрес молодих вчених “Carol Davila”.- Бухарест, 2002. (Автором проведений літературний пошук та викладений основний зміст роботи).
13. Сілкіна Ю.В., Горєлова Н.І. Етапність формування міоангіоархітектоніки в ембріональному серці щура // Мат-ли 75-ї підсумкової наук. конф. „Весна Наукова”.- Дніпропетровськ, 2004.- С.25. (Автором виконаний аналіз наукової літератури, проведений аналіз отриманих результатів, викладений фрагмент тез стосовно морфогенезу архітектури міокарду шлуночків та передсердь, визначені загальні висновки).
14. Сілкіна Ю.В., Горєлова Н.І. Використання методу тривимірної реконструкції в морфології // Мат-ли I наук. конф. „Карповські читання”.- Дніпропетровськ, 2004.- С.43-44. (Автором виконана практична частина роботи, проведений аналіз отриманих результатів, викладений фрагмент тез стосовно комп’ютерної обробки мікрофотографій та алгоритму реконструкції стінки міокарду).
15. Сілкіна Ю.В. Проліферативна активність трабекулярного міокарду шлуночків ембріонального серця людини // Мат-ли наук.-практич. конф. „Гістологія на сучасному етапі розвитку”.- Тернопіль, 2004. - С.58-59.
16. Горелова Н.И., Силкина Ю.В. Методы иммуноморфологии в изучении гистогенетических процессов раннего кардиогенеза // Мат-ли I наук. конф. „Карповські читання”.- Дніпропетровськ, 2004.- С.15-16. (Автор самостійно провела аналіз отриманих результатів та сформулювала загальні висновки).
17. Сілкіна Ю.В. Порівняльна характеристика перетворень архітектури міокарду в ранньому серці у представників хребетних // Мат-ли ІI наук. конф. „Карповські читання”.- Дніпропетровськ, 2005.- С.55-57.
18. Сілкіна Ю.В., Горєлова Н.І. Морфофункціональні переворення міоангіоархітектоніки серця щура в пренатальному періоді // Мат-ли VIII міжнародної наук.-практич. конференції „Наука і освіта”.- Дніпропетровськ, 2005.- С.19-20. (Автором проведений аналіз спеціальної літератури, аналіз отриманих результатів, викладений фрагмент стосовно морфогенезу архітектури міокарду шлуночків та передсердь).

**АНОТАЦІЯ**

Сілкіна Ю.В. Морфогенез просторової організації міокарду в філогенетичному аспекті. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія. - Кримський державний медичний університет ім. С.І.Георгієвського, Сімферополь, 2005.

Дисертація присвячена вивченню морфогенеза просторової організації міокарду у представників різних класів хребетних. Досліджені гістоморфологічні особливості архітектури тканинних компонентів міокарду на етапах кардіогенезу у Rana temporaria, курки, щура та людини. Визначені основні кроки структурних трансформацій елементів міокарду в аспекті їх взаємної орієнтації. Встановлена гістоархітектурна характеристика м’язового, гемомікроциркуляторного та сполучнотканинного компонентів з точки зору просторової орієнтації клітин та клітинних груп. Вивчені процеси клітинної проліферації та диференціювання у ранньому серці людини за допомогою імуногістохімічних маркерів Кі-67, CD-34, віментину та визначені особливості розподілення маркер-позитивних клітин. Створені тривимірні моделі ділянок стінки серця на різних етапах кардіогенезу вивчених об’єктів.

Ключові слова: міокард, архітектура, кардіогенез, філогенез, реконструкція.

**АННОТАЦИЯ**

Силкина Ю.В. Морфогенез пространственной организации миокарда в филогенетическом аспекте. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – гистология, цитология, эмбриология. – Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского, Симферополь, 2005.

Диссертация посвящена изучению морфогенеза пространственной организации миокарда у представителей различных классов позвоночных. Исследованы гистоморфологические особенности архитектуры тканевых компонентов миокарда на этапах кардиогенеза у Rana temporaria, курицы, крысы и человека. Установлены основные шаги структурных трансформаций элементов миокарда в аспекте их взаимной ориентации.

Нами установлено, что начало трабекуляции миокарда потенцирует масштабную архитектурную перестройку клеточных групп, которая проявляется не только изменением их индивидуальной ориентации, но и трансформацией пространственных взаимоотношений с другими диферонными группами. Формирование сложных трабекулярных комплексов и системы первичной микроциркуляции, представленной синусоидами, создает условия для активной пролиферации кардиомиоцитов. Применение иммуногистохимического маркера пролиферации Кi-67 позволило изучить пролиферативную активность клеток, а также топологическую характеристику наиболее активных в этом отношении участков миокарда и сердца в целом. Трехмерная реконструкция участков стенки сердца в раннем сердце показала, что система синусоидов образуется за счет формирования отдельных пространственных комплексов, соединенных между собой посредством анастомозов. Кроме того, в ней можно выделить два типа межтрабекулярных пространств, несущих различную функциональную нагрузку: т.н. коллекторных и резервуарных (имеющих «слепой» конец).

Источником формирования первичного сосудистого русла миокарда являются мезенхимные клетки, мигрирующие из эпикарда. Нами установлено, что клетки, формирующие сосудистую стенку и имеющие эпикардиальное происхождение, обладают свойствами, отличными от мезенхимы примитивного эндокарда. Маркер виментина выявил положительную реакцию с клетками-дериватами эпикарда, локализующимися в толще компактного миокарда на 5 неделе гестации у человека. Виментин-положительные клетки распространялись в миокарде путем миграции в глубокие слои миокарда, после чего активно пролиферировали, формируя контакты между отдельными клеточными группами. Эндотелиальные клетки (CD-34-положительные) в компактном слое наблюдались раньше по сравнению с интратрабекулярным миокардом. При этом виментин- и CD-34-положительная мезенхима имела похожие сроки появления в компактном слое, а также одинаковую первичную локализацию (субэпикардиальный слой), что говорит об одном источнике данных клеток.

Формирование вторичной органоспецифичной сосудистой системы миокарда создает условия для компактизации его структуры. Нами установлено, что этот процесс происходит за счет уплотнения и прижатия друг к другу отдельных трабекулярных пластин без их срастания. При этом происходит резкое уменьшение относительного объема синусоидов, их редукция, гибель ендотелия, выстилающего синусоидные пространства, формирование в этих местах прослоек соединительной ткани. Течение данного процесса имеет схожие черты у курицы, крысы и человека в отличие от земляной лягушки, у которой дефинитивный миокард имеет губчатое строение.

Ключевые слова: миокард, архитектура, кардиогенез, филогенез, реконструкция.

**SUMMARY**

Silkina Yu.V. Morphogenesis of the spatial organization of myocardium in a filogenetic aspect. – Manuscript.

Thesis for a scientific degree of Candidate of Medical Sciences on the speciality 14.03.09 – histology, cytology, embryology.- S.I.Georgievskiy Crimean State Medical University, Simferopol, 2005.

The dissertation is devoted to the study of morphogenesis of the spatial organization of myocardium in the different classes of vertebral. The histomorphological features of tissue components architecture of myocardium on the stages of cardiogenesis in Rana temporaria, chick, rat and man are explored. The basic steps of structural transformation of myocardial elements in the aspect of their mutual orientation are determined. The description of the histoarhitecture of the muscle, heamomicrocirculatory and connective tissue components from point of view of the spatial orientation of cells and cell groups was made. The processes of cellular proliferation and differentiation in the early human heart by the immunohistochemical markers Kі-67, CD-34 and vimentin were studied, and the distribution of marker-positive cells are determined. The three-dimensional models of areas of heart wall on the stages of the cardiogenesis were made.

Keywords: myocardium, architecture, cardiogenesis, phylogenesis, reconstruction.