УДК 616.12:611.018.835:611.89:611.013.395

**Силкина Ю. В., Хмель С. И., Козлова Ю. В.**

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРОВОДЯЩИХ КАРДИОМИОЦИТОВ ЭМБРИОНАЛЬНОГО СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА**

ДЗ «Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины», кафедра патологической физиологии (и.о. зав. каф. – д.мед.н., доц. Силкина Ю. В., Днепропетровск, ул. Севастопольская, 19; silk07@mail.ru)

Теоретическая база гистогенеза клеток проводящей системы сердца (ПСС) на сегодняшний день в некоторой степени ограничена, поскольку нет однозначных ответов на вопросы их происхождения, механизмов клеточных реакций и даже ультраструктурных особенностей в различные периоды кардиогенеза. Это связано как с определенной сложностью идентификации развивающихся проводящих кардиомиоцитов среди массы сократительных, так и с тем, что эти клетки экспрессируют некардиомиоцитарные антигенные детерминанты [1]. В частности, для них характерна экспрессия альфа-гладкомышечного актина (α-SMA), белков триплета нейрофиламентов (NF), экспрессии эндотелиальных факторов (neuregulin). По причине недостаточной изученности «поведения» проводящих кардиомиоцитов в процессе их развития, до сих пор не ясны до конца пути образования дополнительных проводящих путей [2].

Гистогенетические процессы, которые реализует клетка в процессе своего развития – пролиферация, миграция, формирование контактов, дифференцировка, гибель – определяются не только генетическими, но и средовыми факторами, имеюя определенную последовательность согласно генетической программе [3]. Определить направленность реализуемого клеткой в тот или иной период процесса можно с помощью ядерных или цитоплазматических антигенных детерминант, а также лектиновых рецепторов, которые, в некоторой степени, характеризуют поверхностную рецепторную карту клетки.

В связи с этим, **целью** нашего исследования было изучение характеристик гистогенетических процессов, реализуемых проводящими кардиомиоцитами в процессе их эмбрионального развития.

**Материал и методы.** Мы исследовали сердца эмбрионов и плодов человека с 4й по 12ю неделю развития. Применяли иммуногистохимический и лектинохимический методы исследования ткани с использованием моноклональных антител к: нейрофиламентам (NF), альфа-гладкомышечному актину (α-SMA), тяжелой цепи альфа-миозина (MSA); лектинов: арахиса (PNA), специфичный к остаткам β-D-галактозы, β-D-Gal; зародышей пшеницы (WGA), специфичный к остаткам N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетил-нейраминовой кислоты, β-NAc-D-Glc, NAc-Neu; виноградной улитки (HPA),специфичный к остаткам N-ацетил-D-галактозамина, NAc-D-Gal.

**Результаты исследования и обсуждение**. Экспрессия нейропептидов характерна для большинства клеток миокарда в раннем сердце: большинство клеток желудочкового и предсердного миокарда экспрессирует NF в виде исчерченности вследствие коэкспрессии миофибриллярных белков и белков триплета нейрофиламентов в определенных зонах саркомеров (предположительно в области Z-дисков) (рис. 1).

|  |  |
| --- | --- |
| 1 | Рис. 1. Реакция с антителами к NF кардиомиоцитов раннего эмбрионального сердца человека (4я неделя эмбрионального развития). Виден эффект исчерченности вследствие экспрессии белка в определенных зонах формирующихся саркомеров. Докрашивание гематоксилином. Ув.: ×1000. |

Благодаря этому, ранние миоциты полипотентны – они могут проводить импульс и сокращаться. Возникает вопрос: откуда кардиомиоциты раннего сердца получают импульс? Известно, что волна сокращения в раннем сердце идет от верхушки к основанию сердца, т.е. генератор импульсов находится в области желудочка, который сокращается в это время с частотой не более 30 раз/мин. Это свидетельствует о том, что кардиомиоциты в раннем сердце (еще до образования системы проведения) могут не только сокращаться и проводить импульсы, но и генерировать их. Проведенные недавно эксперименты показали, что сократительные кардиомиоциты дефинитивного миокарда предсердий способны не только реализовывать рабочий потенциал действия, но и генерировать специализированный [4]. Известно, что в зрелом сердце при нарушении проведения могут возникать эктопические очаги генерации импульса как в желудочках, так и в предсердиях с частотой около 20 генераций в минуту [5]. Таким образом, нельзя исключать существования «генетической памяти» у кардиомиоцитов, которая может активироваться.

Развитие синоатриального узла (САУ) – водителя ритма сердца – происходит из общего пула полипотентных миоцитов эмбрионального миокарда. В нем выявлены клетки, имеющие высокий миграционный потенциал (WGA-позитивные), которые, однако, принимают участие в формировании сосудов узла и являются дериватами эпикарда, а не мышечными клетками, что говорит в пользу детерминации водителей ритма из общего пула кардиомиоцитов. При традиционном гистологическом окрашивании структура клеток САУ на 5-6 нед. пренатального развития схожа с таковой миоцитов, входящих в состав миокарда предсердий и желудочков. Они тесно связаны с развивающейся нервной системой, т.к. врастающие нервные волокна являются индуктором развития САУ.

Пучок Гиса развивается из пула активно мигрирующих клеток, которые экспрессируют нейрофиламенты в виде исчерченности, накапливают антитела к α-SMA, что характерно для гладких миоцитов и проводящих кардиомиоцитов, имеют на своей поверхности сиалогликоконъюгаты (метятся WGA). Известно, что сиаловые кислоты способствуют ослаблению сил межклеточной адгезии и обеспечивают реализацию миграционных процессов [6].

Важным является то, что в процессе развития проводящие пути, формирующие желудочковую часть пучка, взаимосвязаны с атриовентрикулярными клапанами, септальные створки которых содержат проводящие клетки, экспрессирующие NF в виде исчерченности (до 12й недели этот тип клеток в составе клапанов сохранялся).

Волокна Пуркинье являются дистальным отделом проводящей системы в желудочках. В примитивном желудочке клеток, обладающих нейрональными характеристиками, достаточно много. Однако и среди них выявляется градиент экспрессии NF**:** клетки люминальных трабекул содержат большее количество NF-специфических сайтов, чем клетки интрамуральных отделов. На протяжении всего периода исследования, т.е. до 12й недели пренатального развития, мы не наблюдали сформированных волокон Пуркинье в том виде и той локализации, которая описана в зрелом сердце. До 12й недели развития эндокард еще не сформирован, и трабекулы желудочков в этот период покрыты только эндотелием, экспрессируя α-SMA.Поэтому, на наш взгляд, роль дистального отдела ПСС берет на себя первичная проводящая система до того, как полноценно сформируется эндокард и дефинитивные волокна Пуркинье.

Дистальный отдел проводящей системы предсердий формируется подобным образом **–** клетки миокарда стенки предсердий экспрессируют NF c эффектом исчерченности. Интенсивная реакция сохраняется здесь достаточно долго и не исчезает на максимальном исследованном нами сроке. При этом следует отметить, что количество NF-позитивных клеток относительно негативных здесь значительно больше, по сравнению с таковыми в желудочках.

**Выводы.** **1.** Кардиомиоциты раннего миокарда полипотентны. До формирования участка пучка Гиса, который соединяет предсердную и желудочковую часть ПСС, желудочковый миокард берет на себя роль вентрикулярной проводящей системы (детерминация без комитации). **2**. Формирование узлов проводящей системы происходит путем рекрутизации мультипотентных кардиомиоцитов, а не является результатом миграции клеток-дериватов нервного гребня или эпикарда (полипотентность). **3.** Клетки проводящей системы коэкспрессируют нейрональные и миофибриллярные белки, а также альфа-гладкомышечный актин (мультивекторная дифференцировка). **4.** Выраженной миграционной активностью обладают в эмбриональном сердце только клетки пучка Гиса и его ножек. **5.** Дистальный отдел проводящей системы в предсердиях и желудочках до 12й недели развития не имеет специфической локализации и гистоструктуры. Клетки дистального отдела отличаются от сократительных кардиомиоцитов только иммуногистохимическими характеристиками (градиент скорости дифференцировки в отделах ПСС).

**Перспективы дальнейших исследований.** Планируется изучить аритмогенные свойства отдельных областей эмбрионального миокарда.

**Литература.**

1. Postma A. Developmental aspects of cardiac arrhythmogenesis / A. Postma, V. Christoffels, C. Bezzina // Cardiovascular Research. – 2012. – Vol. 91. – P. 243-251.
2. **Christoffels V. Development of the cardiac conduction system. Why are some regions of the heart more arrhythmogenic than others? / V. Christoffels, A. Moorman // Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology. — 2009. — Vol. 2. — P.195—207.**
3. **Development of the pacemaker tissues of the hear / V. Christoffels, G. Smits, A. Kispert [et al.] // Circ. Res. — 2010. — Vol. 106, № 2. — Р. 240—254.**
4. **Damani S. Molecular genetics of atrial fibrillation / S. Damani, E. Topol // Genome Med. — 2009. — Vol. 1, №5. — Р. 54—61.**
5. **Development of the cardiac conduction system and the possible relation to predilection sites of arrhythmogenesis / M. Jongbloed, E. Mahtab, N. Blom [et al.] // Scien. World J. — 2008. — Vol. 8. — P. 239—269.**
6. Луцик А. Д. Лектины в гистохимии / А. Д. Луцик, Е. С. Детюк, М. Д. Луцик ; под ред. Е. Н. Панасюка. — Львов : Выща шк., 1989. — 144 с.

**Резюме**. **Характеристика гистогенетических процессов проводящих кардиомиоцитов эмбрионального сердца человека. Силкина Ю. В., Хмель С. И., Козлова Ю. В.**

Исследованы сердца эмбрионов и плодов человека в период с 4-й по 12-ю неделю эмбриогенеза. С помощью антител к нейрофиламентам, мышечным белкам (α-SMA, MSA) и лектинов (PNA, WGA, HPA) изучены гистогенетические свойства кардиомиоцитов раннего эмбрионального сердца человека. Установлено, что кардиомиоциты раннего миокарда полипотентны. До формирования участка пучка Гиса, который соединяет предсердную и желудочковую часть ПСС, желудочковый миокард берет на себя роль вентрикулярной проводящей системы. Формирование узлов проводящей системы происходит путем рекрутизации мультипотентных кардиомиоцитов, а не является результатом миграции клеток-дериватов нервного гребня или эпикарда. Клетки проводящей системы коэкспрессируют нейрональные и миофибриллярные белки, а также альфа-гладкомышечный актин. Выраженной миграционной активностью обладают в эмбриональном сердце только клетки пучка Гиса и его ножек. Дистальный отдел проводящей системы в предсердиях и желудочках до 12й недели развития не имеет специфической локализации и гистоструктуры. Клетки дистального отдела отличаются от сократительных кардиомиоцитов только иммуногистохимическими характеристиками.

**Ключевые слова:** проводящая система сердца, кардиомиоцит, эмбрион человека, кардиогенез.

**Резюме**. **Характеристика гістогенетичних процесів провідних кардіоміоцитів ембріонального серця людини. Сілкіна Ю. В., Хмель С. І., Козлова Ю. В.**

Досліджено серця ембріонів і плодів людини в період з 4-го по 12-й тиждень ембріогенезу . За допомогою антитіл до нейрофіламентів , м'язових білків (α - SMA, MSA) і лектинів (PNA, WGA, HPA) вивчені гістогенетичні властивості кардіоміоцитів раннього ембріонального серця людини. Встановлено, що кардіоміоцити раннього міокарда є поліпотентними. До формування ділянки пучка Гіса, який з'єднує передсердну та шлуночкову частини ПСС, шлуночковий міокард відіграє роль вентрикулярної провідної системи. Формування вузлів провідної системи відбувається шляхом рекрутизації мультіпотентних кардіоміоцитів, а не є результатом міграції клітин-дериватів нервового гребеня або епікарду. Клітини провідної системи коекспресують нейрональні та миофібрилярні білки, а також білки гладкої м'язової тканини. Значну міграційну активність мають в ембріональному серці тільки клітини пучка Гіса та його ніжок. Дистальний відділ провідної системи в передсердях і шлуночках до 12-го тижня розвитку не має специфічної локалізації й гістоструктури. Клітини дистального відділу відрізняються у цей період від скорочувальних кардіоміоцитів тільки імуногістохімічними характеристиками.

**Ключові слова**: провідна система серця, кардіоміоцит, ембріон людини, кардіогенез.

**Summary**. **Feature histogenetic processes of conducting cardiomyocytes of the human embryonic heart. Silkina Yu.V., Chmel S.I., Kozlova Yu.V.**

Gistogenetic processes that implements during cell development - proliferation, migration, adgesion, differentiation, death - are determined not only genetic but also environmental factors have a certain sequence according to the genetic program. Determine the direction of cell implemented in a given period of the process by using nuclear or cytoplasmic epitopes, as well as lectin receptors, which, to some extent, characterize the cell surface receptor map.

The aim of our study was to investigate the characteristics of histogenetic processes realized conductive cardiomyocytes during their embryonic development. We explored the heart of human embryos and fetuses since 4th to 12th week of development. Used immunohistochemical and lektinohistochemical methods using a monoclonal antibody: NF, α-SMA, MSA and lectins: PNA, WGA, HPA.

We found that the early myocytes are pluripotent - they can conduct an impulse and contract. Moreover, the sinoatrial node development comes from a common pool of pluripotent embryonic myocardial muscle cells. Bundle of His developed from actively migrating cells. Continues Purkinje’s fibers differentiation is after 12th weeks of prenatal development and before this period it not have the mature structure.

We also established that before the final formation of the bundle of His area, that connects the atrial and ventricular myocardial portion, is the ventricular myocardium and it takes role of early conduction system. The formation of the sinoatrial and atrioventricular nodes is by recruiting of multipotent cardiomyocytes, but is not the result migration of neural crest cells or epicardium cells. The conductive system cells coexpression the neuronal and myofibrillar proteins, such as triplet proteins of neurofilaments and alpha-smooth muscle actin. Most migratory activity have the bundle of His and his branch. Distal conduction system in the atria and ventricles to 12th week of development do not have a specific location and histological structure. The conduction system cells and contractile myosytes in human embryonic heart are different only immunohistochemical characteristics.

**Key words**: cardiac conduction system, cardiomyosytes, human embryon, cardiogenesis.