

О.С.Зозуля

УДК: 611.126:577.95]-092.6

ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ СТУЛОК ПЕРЕДСЕРДНО-ШЛУНОЧКОВИХ КЛАПАНІВ

Дніпропетровська державна
медична академія

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи „Морфогенез серця та судин після експериментальних втручань” (номер державної реєстрації 0106U012193).

Ключові слова: передсердно-шлуночкові клапани, серце, ендокардіальні подушки, фіброзне кільце, CD 34.

Резюме. Метою дослідження було вивчення особливостей розвитку і будови передсердно-шлуночкових клапанів з використанням макро-мікроскопічних, гістологічних та імуногістохімічних методик (маркер CD 34). Матеріалом для дослідження послужили стулки клапанів 96 сердець ембріонів, плодів і людей різних вікових груп. Нами встановлено, що на 7-му тижні пренатального онтогенезу спостерігалася закладка первинного клапанного апарату серця. В процесі закладки і формування стулок передсердно-шлуночкових клапанів беруть участь мезенхіма ендокардіальних подушок і верхня частина делямінаційної пластинки атріовентрикулярного каналу. Нижня частина делямінаційної пластинки бере участь в закладці первинних сухожильних ниток клапанного апарату і верхівки соскоподібного м'яза шлуночку. Зкладка структур, що беруть участь у формуванні фіброзного кільця, здійснюється в ці ж терміни у верхніх відділах делямінаційної пластинки. При імуногістохімічному дослідженні стулок передсердно-шлуночкових клапанів спостерігалася найбільше накопичення маркера CD 34 в основі стулки у всіх вікових групах.

Надійшла: 04.02.2007

Прийнята: 16.03.2007

Zozulya O.S. The developmental features of leaflets of atrio-ventricular valves.

Summary. The purpose of the study was to determine the features of structure and development of atrio-ventricular valves using the macro-microscopic, histological and immunohistochemical methods (marker CD 34). The leaflets of the atrio-ventricular valves of 96 hearts of embryos, fetus and people of different age were used. It was determined that the primary valvular vehicle of heart starts to develop at the 7th week of prenatal ontogenesis. The mesenchyme of endocardial cushions and superior part of delamination plate of atrio-ventricular canal take part in the development of the leaflets of atrio-ventricular valves. The inferior part of delamination plate participates in the primary filaments of tendons of valvular vehicle and apex of the papillary muscle of ventricle. The onset of development of the structures participating in the fibrous ring takes place in the same time in the superior parts of delamination plate. The immunohistochemical study of leaflets of atrio-ventricular valves showed the maximal CD 34 level in the base of leaflets in hearts of all groups.

Key words: atrio-ventricular valves, heart, endocardial cushions, fibrous ring, CD 34.

Вступ

Вивчення ембріологічних процесів органогенезу в сучасній медицині та біології ґрунтується на необхідності вірного розуміння механізму формування різних вад розвитку та можливості їх уникнення. Кардіогенез на ранніх ембріональних стадіях є малодослідженою областю знань, а такі важливі питання як джерела та механізми утворення клапанного апарату (Кмить Г.В., 2000; Соколов В.В., 2003), формування сухожилкових струн та соскоподібних м'язів, перегородок серця та серцевої стінки залишаються невисвітленими в літературі. Останнім часом досить різнонаправлені гіпотези висуваються вченими різних країн щодо формування та значення ендокардіальних подушок атріовентрикулярного каналу (Абашева Е.В., Прыткова М.В., 1998). Ендокардіальні подушки передсердно-шлуночкового каналу на ранніх етапах розвитку виповнені кардіогелем (позаклітинний матрикс), який містить фібрoneктин, а кардіоміоцити мають велику кількість актину. Заповнення обсягу ендокардіальних подушок мезенхімними клітинами внаслідок епітеліально-мезенхімних перетворень відбувається досить нерівномірно і на теперішній час

залишається малодослідженим процесом (Соколов В.В., 1996). Тож механізми раннього кардіогенезу потребують більш детального вивчення.

Мета дослідження

Метою даного дослідження було вивчення процесів становлення клапанного апарату серця протягом онтогенезу.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження послужили стулки клапанів 96 сердець ембріонів, плодів та людей різних вікових груп.

Комплексом морфологічних методик (макро-мікроскопічних, гістологічних та імуногістохімічних) вивчені особливості розвитку клапанів серця.

Серед гістологічних методик були використані забарвлення зрізів гематоксилін-еозіном та за методикою Маллорі-Слінченко. Для вивчення процесів васкулогенезу використовували цитоспецифічний маркер CD34, який накопичується і фарбує в коричневий колір судинний ендотелій. Внутрішнім контролем даної постановочної реакції є накопичення маркера CD34 в ендокарді серця.

Із тканинспецифічних маркерів використо-

ували віментин, який є проміжним філаментом білка, що накопичується в тканинах мезенхімного походження. Білки проміжних філаментів відрізняються тим, що вони не підлягають у клітині циклічним перетворенням, як це відбувається з актиновими філаментами і мікротрубочками. У нормальних тканинах до клітин, що експресують віментин, належать ендотеліальні клітини, фіброласти, гладкі міоцити.

Всі імуногістохімічні реакції проводили на парафінових зрізах серця людини з 5 по 12 тижні пренатального розвитку з використанням відповідних первинних антитіл (DAKO) і системи візуалізації LSAB (Labelled Streptavidin-Biotin).

Результати та їх обговорення

На ранніх етапах кардіогенезу (6-7-й тиждень) спостерігається розшарування міокарда стінки шлуночків та міокарда атріовентрикулярного каналу серця ембріона – делямінація. Делямінація (розшарування) міокарда настає внаслідок втрати зв'язку клітин через зменшення чисельності десмосом та вставних дисків, а як наслідок цього збільшення міжклітинних просторів. Щільна, що утворюється між внутрішнім та зовнішнім шаром кардіоміоцитів поглиблюється в напрямку до верхівки серця. Внаслідок делямінації від верхньої частини стінки шлуночку та атріовентрикулярного каналу відокремлюється внутрішній шар міокарда, вкритий ендотелієм – делямінаційна пластинка. На поверхні делямінаційної пластинки, що звернена у порожнину серця зберігаються ендокардіальні подушки.

Наші дослідження атріовентрикулярної ділянки серця виявили значні за обсягом ендокардіальні подушки, заповнені мезенхімними клітинами, та активні процеси делямінації міокарда в цій зоні вже з 5-6 тижня пренатального розвитку. Розшарування серцевої стінки було настільки явним, що порушення клітинних зв'язків помітно навіть на невеликому збільшенні. Розподіл щільності мезенхімних клітин, що заповнюють обсяг ендокардіальних подушок підтверджує їх походження внаслідок епітеліально-мезенхімних перетворень. Тобто, найбільша щільність клітин в подушках спостерігалась нами ближче до ендокардіальної висилки, в зоні прилягаючої до міокарда атріовентрикулярного каналу мезенхімні клітини були розрідженими, зберігались залишки кардіогелю. Відрізнялися мезенхімні клітини ендокардіальних подушок не тільки щільністю пакування, а й своїми морфологічними ознаками. Клітини, що прилягали до ендотелію подушок, тобто у місці утворення мали короткі відростки, клітини проміжної (середньої) зони були типовими мезенхімними клітинами, тобто мали довгі зірчасті різнонаправлені відростки, які контактували між собою. Клітини зони ендокардіальних подушок, що прилягає до міокарда атріовентрикулярного каналу були мало чисельні, мали довгі відростки та містили між собою залишки кардіогелю.

Подальший розвиток клапанного апарату серця супроводжувався накопиченням мезенхіми

ендокардіальних подушок та збільшенням їхнього обсягу. Найбільш істотні зміни в щільності розподілу клітин спостерігалися нами в середній проміжній зоні подушки, за рахунок розростання якої і відбувався прирост всієї маси мезенхіми. В зоні, що прилягає до міокарда атріовентрикулярного каналу змін не відбувалось, тобто зберігався кардіогель в незначній кількості. Слід зазначити, що формування клапанного апарату серця відбувається паралельно процесам септації серця. Адже ендокардіальні подушки приймають участь не тільки в процесах утворення стулок передсердно-шлуночкових клапанів серця, але й в утворенні частини міжшлуночкової та міжпередсердної перегородок.

Починаючи з 7-го тижня ембріонального розвитку в серці вже сформувалася делямінаційна пластинка з внутрішнього шару міокарда шлуночків. Фарбування за методом Маллорі-Слінченко не виявило наявності сполучнотканинних елементів на цьому етапі розвитку. Делямінаційна пластинка містить в собі на цей період розвитку пучки кардіоміоцитів, вкритих шаром ендокардіальних клітин. Нижня частина пластинки переходить в міокард верхівки шлуночку без різких границь, а верхня являє собою первинну стулку передсердно-шлуночкового клапану, що поки складається з щільних мезенхімних клітин – залишків ендокардіальної подушки та тонкого прошарку кардіоміоцитів. Таким чином разом з стулками передсердно-шлуночкових клапанів формуються первинні соскоподібні м'язи та численні трабекули міокарда шлуночку.

Процеси делямінації продовжуються вже в менших масштабах в міокарді шлуночків та в папілярно-трабекулярному апараті, що формується. В делямінаційній пластинці ми спостерігали перфораційні процеси, які розподіляють її на окремі м'язові тяжі, вкриті ендокардом. Гістотопографічні зрізи показали, що напрямком пучків міокарда, які не підлягають перфорації - вертикальний, тобто співпадає з напрямком повздовжньої вісі шлуночку. Сухожилкових струн на цьому етапі розвитку в наших дослідженнях не виявлено, тобто первинний соскоподібний м'яз своєю верхівкою кріпиться до первинної стулки передсердно-шлуночкового клапану.

Міокард атріовентрикулярного каналу теж проходить через делямінацію, тобто розшарування на окремі прошарки, але утворення трабекул не відбувається в цій ділянці серця, як це відбувається в міокарді шлуночків. Результатом делямінації міокарда атріовентрикулярного каналу стає формування делямінаційної пластинки, яка відокремлюється від стінки каналу та несе на собі ендокардіальні подушки. Згодом ця делямінаційна пластинка та мезенхіма ендокардіальних подушок приймають участь у формуванні стулок передсердно-шлуночкових клапанів серця. Тобто первинна стулка передсердно-шлуночкового клапану являє собою тонкий прошарок міокарда ембріонального серця та залишок ендокардіальних подушок мезенхімного складу. Розподіл мезенхі-

мних клітин на поверхні стулки, що звернена у просвіт передсердно-шлуночкового каналу виражено нерівномірний: клітини можуть утворювати скупчення у вигляді здуття, а можуть вкривати тонким прошарком всю поверхню стулки.

Починаючи з 8-го тижня ембріогенезу делямінаційної пластинки як такої вже не існує. Її верхня частина, що прилягає до передсердно-шлуночкового отвору являє собою первинну стулку отвору, а нижня частина шляхом перфорації розділяється на окремі м'язові тяжі, що вкриті шаром ендокарда та являють собою соскоподібні м'язи, верхівки яких переходять у мезенхіму стулки передсердно-шлуночкового клапану, а також рельєфні м'язові тяжі – трабекули шлуночку. Деякі соскоподібні м'язи кріпляться до нижньої поверхні стулки, а деякі до краю стулки. Сама стулка представлена щільної мезенхімною тканиною, що вкрита ендокардом, який формується.

З 10-го тижня плодового періоду в середній частині первинного соскоподібного м'яза спостерігаються процеси розшарування волокон міокарда та утворення порожнин. Ці події дуже схожі на процес делямінації стінки шлуночка в ранньому ембріональному серці. В верхніх відділках первинного соскоподібного м'яза, поблизу до місця переходу у край стулки передсердно-шлуночкового клапана розшарування міокарда менш виразно.

Наші дослідження показали, що з 12-го тижня плідного періоду в середній частині соскоподібного м'яза спостерігаються процеси подальшого розшарування волокон міокарда та утворення порожнин. В деяких порожнинах соскоподібного м'яза були виявлені елементи крові, тобто дані утворення є, мабуть, різновидами судин, або синусоїдів серця.

Окремі пучки міоцитів розходяться, утворюючи простори, що не забарвлюються при фарбуванні зрізів використаними нами методами. Такі простори не мають ендокардіальної висилки і орієнтовані вздовж соскоподібного м'яза. В нижній третині соскоподібного м'яза ми не спостерігали ніякого розшарування міокарда, тобто базальна частина м'яза не підлягає перетворенням, які відбуваються у середній та верхній третинах.

В деяких випадках в місці переходу верхівки соскоподібного м'яза до стулки клапана, що формується спостерігається накопичення мезенхімних клітин самої стулки. Сама стулка являє собою щільну мезенхімну тканину з незначною кількістю м'язових елементів, які розташовані прошарком ближче до шлуночкової поверхні стулки.

До нижньої поверхні стулки клапана теж прикріплюються поодинокі соскоподібні м'язи, міокард яких переходить без різких границь у мезенхіму стулки. Міокард верхівки соскоподібного м'яза утворює компактну пластинку з 8-10 шарів кардіоміоцитів, що контактують з мезенхімною стулки.

Поверхня стулки передсердно-шлуночкового клапана, що звернена у сторону передсердя –

гладка та утворена щільно розташованими клітинами, поверхня, яка звернена у бік шлуночку нерівна, має випинання назустріч соскоподібним м'язам. Досліджуючі формування первинних сухожилкових струн як елемента клапанного апарату передсердно-шлуночкового клапану, ми спостерігали навіть на більш пізніх етапах пренатального розвитку первинні сухожилкові струни, що з'єднували верхівку первинного соскоподібного м'яза з краєм стулки.

Простежуючи подальший розвиток клапанів передсердно-шлуночкового отвору, ми виявили той факт, що формування стулок клапанів йде паралельно процесу утворення колагенових волокон передсердно-шлуночкової борозни та крупних судин серця плода. Перші прошарки колагенових волокон нами виявлялись в передсердно-шлуночкової борозні серця вже з 14 тижня пренатального розвитку. Аналогічні пучки розташовувались також в стінках крупних судин, утворюючи кільця навколо місця відходження аорти та легеневого стовбуру від стінки серця. Результати наших досліджень показали, що поява колагенових волокон фіксувалась в клапанах серця спочатку з шлуночкової поверхні клапану. Сама речовина стулки складається на цей час з щільно розташованих мезенхімних клітин. Щільність розташування мезенхіми в стулках передсердно-шлуночкових клапанів, що формуються досить рівномірна. Міокард шлуночків щільний, в області передсердно-шлуночкової борозни з'єднується з колагеновими пучками, що формуються. Також спостерігалась поява перших колагенових волокон в епікарді.

Нами було простежено, що утворення та формування сполучнотканинних елементів стулок передсердно-шлуночкових клапанів проходить одночасно у стулці клапану, у соскоподібному м'язі та передсердно-шлуночкової борозні. Таким чином, колагенові волокна формуються одночасно та єдиним шаром, який з'єднує міокард, стулку клапану та соскоподібний м'яз. Згодом прошарок колагенових волокон потовщується. Ми спостерігали, що щільність прилягання мезенхімних клітин одна до одної збільшується, поміж клітинами формуються перші прошарки колагенових волокон, більш компактно розташовані з шлуночкової сторони стулки.

Дослідження показали, що при подальшому розвитку в клапанах передсердно-шлуночкового отвору відбуваються не тільки процеси виникнення колагенових волокон, а й розростання міокардіальних елементів. Відомо, що стулки зрілого клапану серця містять в собі м'язові структури. Перші прошарки, або включення м'язових клітин у стулках клапану спостерігалися нами в ранньому плідному періоді. На наступних стадіях розвитку кількість міокардіальних клітин збільшувалась, з'являються клітинні тяжі, що пронизують усю площу стулки клапану. Ці міокардіальні тяжі не формуються в прошарки, а, потовщуючись, розростаються. При цьому вони більш наближені до майбутньої передсердної поверхні стулки ніж

до шлуночкової.

При імуногістохімічних дослідженнях стулок передсердно-шлуночкових клапанів в різних вікових групах ми спостерігали нерівномірне накопичення маркера CD-34 (рис.1, 2, 3).

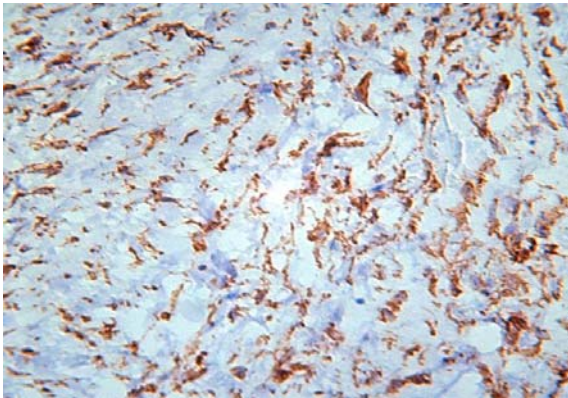


Рис.1. Зріз передсердно-шлуночкового клапана дитини першого року життя. Забарвлення маркером ендотелію CD 34. $\times 400$.

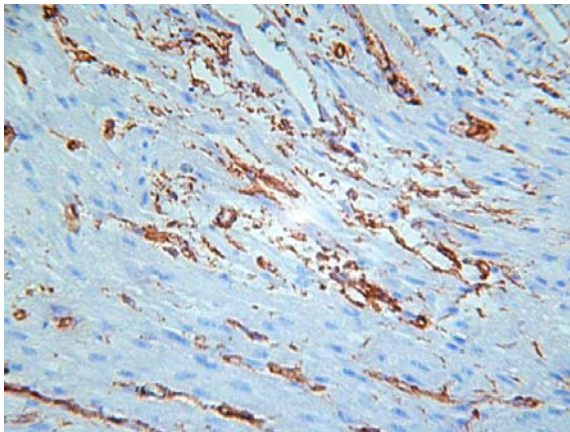


Рис.2. Зріз передсердно-шлуночкового клапана юнака 13 років. Забарвлення маркером ендотелію CD 34. $\times 400$.

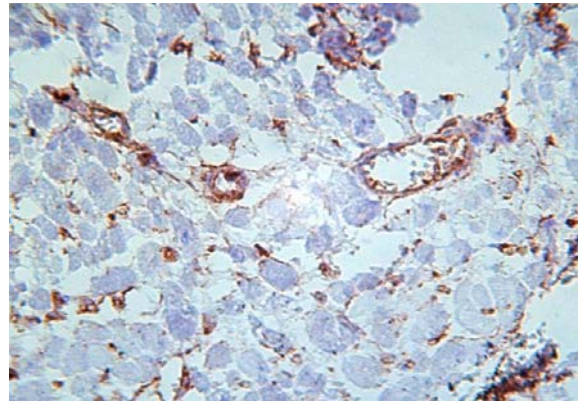


Рис.3. Зріз передсердно-шлуночкового клапана чоловіка 36 років. Забарвлення маркером ендотелію CD 34. $\times 400$.

Найбільша кількість маркера знаходилась в основі стулки, тобто ближче до фіброзного кільця. До вільного краю стулки зменшувалась кількість маркеру, що свідчить про градієнт розташування судинного ендотелію, тобто зменшення кількості судин в стулці клапану.

Висновки

1. На 7-му тижні пренатального онтогенезу спостерігалась закладка первинного клапанного апарату серця. В закладці та формуванні стулок передсердно-шлуночкових клапанів беруть участь мезенхіма ендокардіальних подушок та верхня частина делямінаційної пластини атріовентрикулярного каналу.

2. Нижня частина делямінаційної пластини бере участь у закладці первинних сухожилкових струн клапанного апарату та верхівки соскоподібного м'язу шлуночка.

3. Закладка структур, що беруть участь у формуванні фіброзного кільця, відбувається в ці ж строки у верхніх відділах делямінаційної пластини.

4. При імуногістохімічному дослідженні стулок передсердно-шлуночкових клапанів спостерігалось найбільше накопичення маркеру CD 34 в основі стулки у всіх вікових групах.

Перспективи подальших розробок

Представлені дані послужать основою для подальших досліджень клапанного апарату серця як в морфології, так і в клініці. Необхідно також у майбутньому дослідити шляхи кровопостачання стулок передсердно-шлуночкових клапанів

Літературні джерела

Абашева Е.В., Прыткова М.В. Изменчивость компонентов клапанного аппарата сердца // Тез. докл. Всеросс. конф. студ. и аспирантов морфологических кафедр мед. вузов и НИИ России, посвящ. 200-летию Военно-мед. академии.- СПб.- 1998.- С.20.

Кмать Г.В. Возрастные особенности морфофункционального развития миокарда левого желудочка у детей 5-9 лет. // Сб. мат. междунар. научно-практ. конф.- Архангельск, 2000.- С.183-

186.

Соколов В.В. Ангиоархитектоника клапанов сердца новорожденных // Структурные преобразования органов и тканей на этапах онтогенеза в норме и при воздействии антропогенных факторов. Проблемы экологии в медицине.- Астрахань, 1996.- С.176.

Соколов В.В. Сравнительная морфология клапанов сердца.- Ростов-на Дону, 2003.- 249 с.

Зозуля Е.С. Особенности развития створок предсердно-желудочковых клапанов.

Резюме. Целью исследования было изучить особенности развития и строения предсердно-желудочковых клапанов с использованием макро-микроскопических методик, гистологических и иммуногистохимических методик (CD 34). Материалом для исследования послужили створки клапанов 96 сердец эмбрионов, плодов и людей разных возрастных групп.

Нами установлено, что на 7-й неделе пренатального онтогенеза наблюдалась закладка первичного клапанного аппарата сердца. В процессе закладки и формирования створок предсердно-желудочковых клапанов принимают участие мезенхима эндокардиальных подушек и верхняя часть деляминационной пластинки атриовентрикулярного канала. Нижняя часть деляминационной пластинки принимает участие в закладке первичных сухожильных нитей клапанного аппарата и верхушки сосцевидной мышцы желудочка. Заложка структур, принимающих участие в формировании фиброзного кольца осуществляется в эти же сроки в верхних отделах деляминационной пластинки. При иммуногистохимическом исследовании створок предсердно-желудочковых клапанов наблюдалось наибольшее накопление маркера CD 34 в основании створки во всех возрастных группах.

Ключевые слова: предсердно-желудочковые клапаны, сердце, эндокардиальные подушки, фиброзное кольцо, CD 34.