ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ: ԱՐՅԱՆ ՇՐՋԱՆԱՌՈՒԹՅՈՒՆ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР, КРОВООБРАЩЕНИЕ

IX, № 3, 1976

УДК 591.412.86:598.6—013.9

П. А. ХЛОПОНИН

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ПРОЦЕССОВ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И ПРОЛИФЕРАЦИИ КАРДИОМИОЦИТОВ ЖЕЛУДОЧКОВ И ПРЕДСЕРДИЙ В ОНТОГЕНЕЗЕ ПТИЦ

В настоящее время определенный интерес представляют сведения о пролиферативной активности в ходе гистогенеза различных отделов миокарда. Это необходимо как для выяснения периодов наиболее интенсивной пролиферации малодифференцированных кардиомиоцитов, так и для анализа потенций дифференцированных миоцитов предсердий и желудочков к дерепрессии синтеза ДНК и реактивации митотических циклов, так как известно, что морфологические реакции мышечной ткани предсердий на повреждение отличны от таковых в желудочках [2, 4, 6, 7, 9].

Исследовавшийся материал (зародыши курицы 30—120 час. инкубации целиком, сердца 5—20-суточных зародышей, а также участки предсердий и желудочков сердца 1—90-суточных цыплят) фиксировался в жидкостях Карнуа, Буэна и в 10% растворе нейтрального формалина. Парафиновые срезы толщиной 6—7 мк окрашивались гематоксилин-эозином, железным гематоксилином по Гейденгайну. РНК выявлялась модифицированной гистохимической реакцией Браше, гликоген—реакцией Шика [12]. Для суждения о пролиферативной активности дифференцирующихся сердечных миоцитов компактного и трабекулярного миокарда желудочков и миокарда предсердий определялся митотический индекс. При биометрическом исследовании определялся объем их ядер и ядрышек с помощью винтового окуляр-микрометра МОВ-1-15 [11]. Достоверность различий при сопоставлении средних величин объемов ядер и ядрышек, средних показателей ядрышко-ядерных отношений и митотических индексов в исследовавшихся отделах миокарда устанавливалась соответственно законам математической статистики.

Для электронномикроскопического исследования кусочки миокарда желудочков и предсердий зародышей курицы и цыплят параллельных светооптическим наблюдениям стадий развития фиксировались в 1% растворе тетраокиси осмия [19] и заливались в аралдит [15]. Ультратонкие срезы после контрастирования в растворах уранилацетата [22] и цитрата свинца [20] просматривались в электронном микроскопе УЭМВ-100К.

Малодифференцированные клетки миокардиального слоя сердечной трубки зародышей курицы в предфункциональный период кардиогенеза уже характеризуются наличием морфологических признаков вступления их на путь специфической дифференциации. Об этом свидетельствуют интенсивная пиронинофилия цитоплазмы и ядрышек, обилие свободных рибосом, элементов гранулярной эндоплазматической сети и пластинчатого комплекса, околоядерные и субсарколеммные скопления беспорядочно расположенных миофиламентов, а также признаки начинающегося саркомерогенеза (рис. 1). Немногочисленные, малой величины, с ред-

Рис. 1. Саркомерогенез в околоядерной зоне малодифференцированного кардиомиоцита. Зародыш курицы 30 час. инкубации. Увел. 30 000.

кими короткими кристами митохондрии расположены без ориентации. Количество гранул гликогена и липидных капель незначительно. В мелкозернистой кариоплазме располагается обычно одно крупное ядрышко. В кариолемме множество пор. Вблизи ядер обнаруживаются центриоли, мультивезикулярные тельца, изредка—лизосомы.

В период развертывания функциональной активности трубчатого сердца малодифференцированные кардиомиоциты содержат значительно больше синтезированной массы сократительного материала. У зародышей курицы 36—42 час. инкубации под их сарколеммой обнаруживаются тонкие, короткие, поперечноисчерченные миофибриллы (рис. 2). Гипертрофированы гранулярная эндоплазматическая сеть и пластинчатый комплекс, увеличивается количество митохондрий, нарастает содержание гликогена и липидов.

В период образования сердечной трубки, а также к моменту появления сердечных сокращений становится очевидным, что интенсивные процессы специфической дифференцировки кардиомиоцитов сопряжены с их низкой пролиферативной активностью (табл. 1). Это установлено также авторадиографическими исследованиями гистогенеза миокарда кур [1, 21] и мышей [3] и, возможно, объясняется тем, что в малодифференци-

рованных клетках сердечной мышцы еще не накопилась определенная «критическая» масса структурно организованного сократительного материала, необходимая для осуществления сердечных сокращений.

Рис. 2. Субсарколеммное расположение миофибрилл в дифференцирующихся сердечных миоцитах. Зародыш курицы 40 час. инкубации. Увел. 8 000.

Наиболее высокая митотическая активность атриальных и вентрикулярных миоцитов наблюдалась нами у 2-суточных зародышей курицы, что согласуется с имеющимися данными для миокарда желудочка [18]. Однако интенсивность пролиферации клеток, согласно нашим наблюдениям, значительно выше. Литературные данные по этому вопросу противоречивы [14, 17].

В наших исследованиях оказалось, что показатели индекса митозов в миокарде желудочка были более высокими, чем в миокарде предсердия. Выраженная пролиферативная активность малодифференцированных кардиомиоцитов, а также высокий пролиферативный пул и небольшая продолжительность митотического цикла [1] способствуют быстрому нарастанию массы клеток миокарда в течение первой половины эмбрионального развития.

В ядрах 25—30% дифференцирующихся сердечных миоцитов у куриных эмбрионов 2—3 суток инкубации имеется по два-три крупных ядрышка. Средние величины объемов ядер и ядрышек в вентрикулярных кардиомиоцитах выше, чем у атриальных (табл. 2). Статистически достоверная разница митотической активности миоцитов предсердия и желудочка трубчатого сердца, объемов их ядер и ядрышек позволяет предполагать довольно рано появляющуюся асинхронность развития этих отделов сердца. Видимые различия в уровне специфической дифференциации миоцитов предсердия и выделяющейся трабекулярной зоны миокарда желудочка зародышей курицы 3 суток инкубации убеждают в этом. Клетки компактного миокарда желудочка в этот период кардиогенеза менее дифференцированы, цитоплазма их более базофильна. Митотический

Таблица 1

Показатели митотического индекса (в %) в различных отделах дифференцирующейся сердечной мышцы куриных эмбрионов и цыплят

Возраст куриных эмбрионов и цыплят	Количество исследованных сердец	Число подсчитанных клеток	Миокардиальный слой трубчатого сердца	Компактный миокард желудочков	Миокард предсердий	Трабекулярный миокард желудочков
Эмбрионы						
30—32 часа	15	10000	0,37±0,06	—	—	—
42—44 часа	20	10000	0,53±0,09	—	—	—
2 суток	25	10000	—	3,65±0,18	2,92±0,11	—
3 суток	10	10000	—	2,75±0,09	2,05±0,08	1,96±0,08
4 суток	10	10000	—	2,71±0,12	2,27±0,08	1,73±0,11
5 суток	10	10000	—	2,33±0,11	1,84±0,11	1,56±0,16
7 суток	10	10000	—	1,93±0,09	1,16±0,06	1,06±0,06
9 суток	6	10000	—	1,76±0,07	0,94±0,08	0,89±0,07
13 суток	8	10000	—	1,34±0,09	1,25±0,08	0,73±0,06
15 суток	5	10000	—	0,79±0,06	0,86±0,08	0,67±0,08
18 суток	5	10000	—	0,49±0,05	0,75±0,07	0,64±0,06
20 суток	5	10000	—	0,08±0,03	0,48±0,06	0,18±0,03
Цыплята						
1 сутки	5	10000	—	0,02±0,01	0,16±0,03	0,11±0,03
3 суток	5	10000	—	—	0,04±0,02	0,01±0,01

Таблица 2

Величины объемов ядер и ядрышек, показатели ядрышко-ядерных отношений в дифференцирующихся кардиомиоцитах желудочков и предсердий зародышей курицы (среднее для 100 клеток—M±м.)

Возраст куриных эмбрионов	Отделы миокарда	Объем ядра (в мк³)	Объем ядрышка (в мк³)	Ядрышко-ядерное отношение
2 суток	Желудочек	108,049±4,098	7,165±0,679	1:15,15±0,006
	Предсердие	92,730±3,574	5,814±0,527	1:15,87±0,005
	Компактный миокард желудочка	86,924±3,841	2,743±0,319	1:27,78±0,005
3 суток	Трабекулярный миокард желудочка	105,799±5,716	3,842±0,364	1:26,95±0,003
	Миокард предсердия	98,363±3,901	4,984±0,806	1:16,67±0,014
7 суток	Компактный миокард желудочков	62,114±2,541	1,195±0,235	1:50,16±0,004
	Трабекулярный миокард желудочков	96,385±4,624	1,055±0,116	1:83,33±0,001
	Миокард предсердий	69,460±2,973	0,866±0,067	1:76,92±0,001
13 суток	Миокард желудочков	81,484±3,581	0,478±0,045	1:166,67±0,001
	Миокард предсердий	56,408±2,441	0,316±0,035	1:166,67±0,001
20 суток	Миокард желудочков	76,398±4,262	0,187±0,024	1:333,33±0,0005
	Миокард предсердий	48,587±1,955	0,162±0,037	1:250,11±0,001

индекс здесь значительно выше, чем в других отделах миокарда. Данные биометрии, показавшие, что объемы ядер и ядрышек в миоцитах трабекул больше, чем в кардиомиоцитах компактного вентрикулярного миокарда, в сочетании с появлением толстых параллельно проходящих поперечноисчерченных миофибрилл в трабекулярных кардиомиоцитах свидетельствуют о значительной интенсивности морфогенетических процессов клеточной организации в этом отделе миокарда. Ядра миоцитов предсердия по своему объему меньше ядер миоцитов трабекул. Но больший объем их ядрышек и относительно большое ядрышко-ядерное отношение свидетельствуют о более интенсивных процессах синтеза белка в цитоплаз-

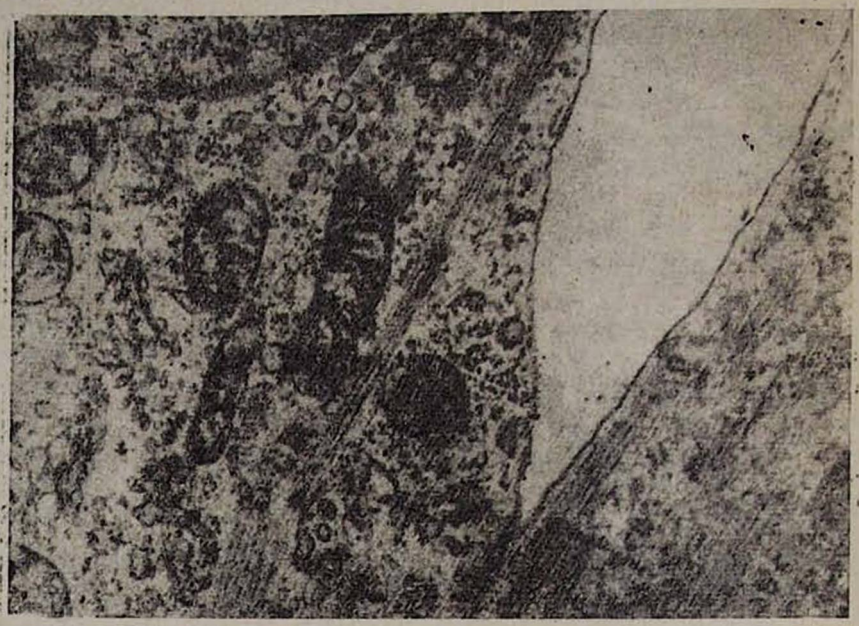

Рис. 3. Электронная микрофотография атриальных кардиомиоцитов зародыша курицы 3 суток инкубации. Увел. 10 000.

ме атриальных кардиомиоцитов, где также появляются единичные длинные и толстые, наряду с тонкими и короткими, исчерченные миофибриллы (рис. 3). Эти морфобиометрические данные являются выражением последовательности интенсификации процессов синтеза специфических контрактильных белков в раннем кардиогенезе.

На 4—7-е сутки инкубации в изучавшихся отделах миокарда отмечено закономерное снижение всех биометрических показателей. Снижение индекса митозов в вентрикулярном миокарде и повышение митотической активности в атриальной мускулатуре 4-суточных зародышей курицы может быть связано с формированием межпредсердной перегородки. Становится заметной роль компактного миокарда желудочков как основной пролиферативно-активной зоны. Согласно субмикроскопическим данным в этот срок наиболее дифференцированными являются миоциты

трабекулярной зоны желудочков, наиболее—компактного миокарда, промежуточное положение занимают миоциты предсердий.

На 12—13-е сутки инкубации на фоне закономерного падения митотической активности мышечной ткани во всех изучавшихся отделах сердца в атриальной мускулатуре отмечается еще один статистически достоверный ее подъем. С развитием соединительнотканой стромы миокарда дифференциация митотически делящихся миоцитов и соединительнотканых клеток проводилась с учетом отличительных морфологических признаков [8]. Значительное снижение индекса митозов в компактном миокарде желудочков сопровождается интенсификацией синтеза сократительных белков и миофибриллогенеза.

К концу эмбрионального периода (20-е сутки инкубации) и в первые сутки жизни цыплят индекс митозов достигает самых низких показателей в компактной зоне миокарда желудочков. Трабекулярный миокард и миокард предсердий достигают этого уровня лишь на 3-ьи сутки постнатальной жизни. Среди наблюдавшихся фигур митотического деления чаще всего встречались характерные для метафазы; уменьшались объемы ядер и ядрышек. Ядрышко-ядерное отношение в атриальных кардиомиоцитах больше (1:250), чем в вентрикулярных (1:333).

Ультраструктурные проявления процессов «созревания» сердечных миоцитов к концу эмбрионального и началу постэмбрионального гистогенеза миокарда выражаются в организации миофибриллярного аппарата, снижении количества свободных рибосом, специфических гранул, элементов гранулярной эндоплазматической сети и пластинчатого комплекса, нарастании числа и размеров цистерн саркоплазматического ретикулума, увеличении количества митохондрий, матрикс которых уплотняется, увеличивается число и протяженность крист, выражена ориентация между миофибриллами; усилении извилистости хода и нарастании ширины и электроннoплотных зон «fasciae adhaerens» вставочных дисков. Указанные выше изменения субмикроскопической организации кардиомиоцитов в позднем эмбриональном периоде особенно выражены в компактном миокарде желудочков.

Исходя из полученных данных можно полагать, что ранний период формообразования сердца характеризуется определенной динамикой процессов синтеза специфических контрактильных белков.

Проведенные морфобиометрические исследования отражают возрастающую в ходе миокардиогенеза дифференцировку сердечных миоцитов и подтверждают асинхронность их развития в различных отделах сердца. Наиболее дифференцированными, соответственно этим показателям в конце периода эмбриогенеза, оказываются кардиомиоциты компактной зоны миокарда желудочков, менее—миокарда предсердий.

Ростовский государственный медицинский ин-т

Поступило 24/X 1975 г.

Պ. Ա. ԽԼՈՊՈՆԻՆ

ՆԱԽԱՍՐՏԵՐԻ ԵՎ ՓՈՐՈՔՆԵՐԻ ԿԱՐԴԻՈՄԻՈՑԻՏՆԵՐԻ ՊՐՈԼԻՖԵՐԱՑԻԱՅԻ ԵՎ ԴԻՖԵՐԵՆՑԻԱՑԻԱՅԻ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԻ ԴԻՆԱՄԻԿԱՅԻ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ԱՆԱԼԻԶԸ՝ ԹՌՉՈՒՆՆԵՐԻ ՈՆՏՈԳԵՆԵԶՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մորֆոբիոմետրիկ հետազոտությունները ցույց են տվել, որ սրտի տարբեր շրջաններում միոցիտների ոչ հավասարաչափ աճ և միոկարդիոգենեզի ժամանակ դիֆերենցիացիայի բարձրացում։

Էմբրիոգենեզի վերջում նկատվում է կարդիոմիոցիտների լավագույն դիֆերենցիացիա սրտի փորոքների կոմպակտ սահմաններում, վատ դիֆերենցիացիա նկատվում է նախասրտում։

P. A. KHLOPONIN

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF DIFFERENTIAL DYNAMIC PROCESSES AND OF PROLIFERATION OF VENTRICULAR AND AURICULAR CARDIOCYTES IN THE BIRD ORTHOGENESIS

S u m m a r y

The performed morphobiometric studies have reflected the increasing myocardiogenic differentiation of heart myocytes and confirmed the asynchronism of their development in the different parts of heart. At the end of embryogeny, the cardiomyocytes of ventricular myocardial compact zone are more differential than in the auricular myocardium.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Андерс Н. В., Дондуа А. К., Лызлова С. Н.* Тр. Тбилисского ун-та, 1971, 139, 3, 97—107. 2. *Быкова Н. М.* Сб. «Патология сердечно-сосудистой системы». Тез. V Всес. студ. научн. конф. медицинских (фармацевтических) вузов. Волгоград, 1973, 178—180. 3. *Ерохина И. Л.* Автореферат канд. дисс. Л., 1972. 4. *Колосова А. А.* Докт. дисс., Воронеж, 1961. 5. *Ромейс Б.* Микроскопическая техника. М., 1953. 6. *Румянцев П. П.* Матер. V конф. патологоанатомов Латвии. Рига, 1970, 156—164. 7. *Румянцев П. П.* Архив АГЭ, 1972, 62, 6, 115—121. 8. *Румянцев П. П., Соколовская И. Л.* В сб. «Исследование клеточных циклов и метаболизма нуклеиновых кислот при дифференцировке клеток». М.—Л., 1964, 71—83. 9. *Румянцев П. П., Миракян В. О.* Цитология. 1968, 10, 10, 1276—1287. 10. *Светлов П. Г.* В сб. «Вопросы цитологии и общей физиологии», Изд. АН СССР, М.—Л., 1960, 263. 11. *Хесин Я. Е.* Размеры ядер и функциональное состояние клеток. М., 1967, 12. *Шабадаш Л. А.* Гистохимия гликогена нормальной нервной системы. Медгиз, М., 1949. 13. *Шкурко В. И., Язвиков В. В.* Цитология, 1964, 6, 3, 383. 14. *Ямщиков Н. В.* Архив АГЭ, 1973, 65, 9, 75—81. 15. *Glauert A. M., Glauert R. H.* J. Cell. Biol., 1958, 4, 2, 191—195. 16. *Goertler K. L.* Verh. dtsch. Ges. Path., 1956, b, 40, 181. 17. *Grohman D. Z.* Zellforsch, 1961, 55, 1, 104—122. 18. *Olivo G. M., Slavich C. E.* Arch. Entwicklungsmech, 1930, 121, 1/2, 96—110. 19. *Palade G. E.* J. Exp. Med. 1952, 95, 285. 20. *Reynolds E. S.* J. Cell. Biol., 1963, 11, 1, 208—212. 21. *Sissman N. E.* Nature, 1966, 210, 5035, 504—507. 22. *Watson M. L.* J. Biophys., biochem. Cytol., 1958, 4, 475—478.