

УДК 616.126.52-091-092.9

Н. Н. Бескровнова, В. В. Королев, И. Л. Кошарская, В. А. Макарычев, Л. С. Ульянинский

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЙСМЕКЕРНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ, РАСПОЛОЖЕННЫХ В АТРИО-ВЕНТРИКУЛЯРНЫХ КЛАПАНАХ СЕРДЦА

Лаборатория экспериментальной кардиологии (зав. — доктор мед. наук Л. С. Ульянинский) Института нормальной физиологии им. П. К. Анохина АМН СССР и лаборатория электронной микроскопии (зав. — доктор мед. наук В. В. Королев) при ЦНИЛ Г Московского медицинского института им. И. М. Сеченова

(Поступила в редакцию 15/VII 1976 г. Представлена акад. АМН СССР А. М. Чернухом)

С помощью микроэлектродной техники и метода электронной микроскопии в створках атрио-вентрикулярных клапанов сердца кролика обнаружены многоклеточные образования, ответственные за генерацию спонтанной пейсмекерной активности. Выявлены различные по своему морфологическому строению клетки: Р-клетки, клетки типа клеток Пуркинье и переходные. Показана богатая иннервация данных образований, преимущественно холинергической природы. Установлена определенная корреляция между морфологическим строением и электрофизиологическими показателями этих клеток (Бюлл. экспер. биол., 1977, № 5, с. 1).

Ключевые слова: атрио-вентрикулярные клапаны; автоматика; мембранные потенциалы; Р-клетки.

В последние годы появились сообщения о наличии пейсмекерной активности в атрио-вентрикулярных клапанах сердца собаки [12] и обезьяны [14]. Нами была обнаружена стойкая пейсмекерная активность в атрио-вентрикулярных клапанах сердца кролика [2]. Эта активность характеризуется наличием спонтанно возникающих потенциалов действия (ПД), имеющих медленную диастолическую деполяризацию (МДД), и обусловлена преимущественным функционированием медленного натрий-кальциевого канала.

Известно, что пейсмекерные образования сердца млекопитающих характеризуются определенной морфологической структурой: наличием Р-клеток, клеток типа клеток Пуркинье и транзиторных, или переходных, клеток [7, 8, 10]. Образования подобного типа в атрио-вентрикулярных клапанах ранее не были обнаружены, хотя есть морфологические данные о наличии в них нервных и миокардиальных элементов [3, 4, 6].

В настоящей работе впервые обнаружен и описан многоклеточный морфофункциональный комплекс, ответственный за генерацию спонтанной пейсмекерной активности в атрио-вентрикулярных клапанах сердца кролика.

Методика исследования. Под уретановым наркозом у 72 кроликов извлекали сердце, вскрывали левый и правый желудочки и вырезали створки атрио-вентрикулярных клапанов. Спонтанно сокращающиеся препараты перфузировали раствором Тироде следующего состава (в ммоль/л): NaCl—137, KCl—2,7, CaCl<sub>2</sub>—1,8, MgCl<sub>2</sub>—1,0, NaHCO<sub>3</sub>—12, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>—0,4, глюкоза—5,5. Раствор окисгенировали газовой смесью, содержащей 95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>, pH раствора 7,4, температура 36—37°C. Мембранные потенциалы пейсмекерных клеток отводили с помощью стеклянных микроэлектродов по методике, приведенной в предыдущей работе [2]. На 100 препарата атрио-вентрикулярных клапанов исследовали электрофизиологические характеристики пейсмекерных клеток: частоту возникновения спонтанных ПД, их форму, величину потенциала превышения (овершут), уровни критического и максимального диастолического потенциалов.

Электронно-микроскопическому исследованию подвергались участки клапанов (30 препаратов), в которых электрофизиологически определялась пейсмекерная активность. Материал фиксировали в забуференном растворе осмиеевой кислоты, обезживали и заливали в аралдин. С помощью метода цельной ультратомии на полуточных срезах через всю поверхность блока выявляли нужный участок в виде скоплений клеток мышечного типа, в области которого потом затачивали пирамиду для получения ультратонких срезов. Срезы контрастировали и рассматривали в электронном микроскопе ИЕМ-100-В при увеличении 5000—40 000 раз.

Результаты исследования. При световой микроскопии на полуточных срезах в строме клапанов, представленной рыхлой соединительной тканью, выявлялись отдельные скопления клеток мышечного типа (рис. 1, а) в тех участках, в которых электрофизиологически обнаруживалась пейсмекерная активность. Электронно-микроскопическое изучение позволило выявить разные по своему морфологическому строению клетки в этих образованиях.

Одни клетки имели небольшие размеры (диаметр 5—10 мкм), крупное центрально расположеннное ядро и светлую цитоплазму из-за малого количества внутриклеточных органел (рис. 1, б). В цитоплазме этих клеток наблюдались единичные митохондрии со светлым матриксом и небольшим количеством крист, отдельные сократительные элементы — миофиламенты, располагающиеся беспорядочно или в виде небольших пучков без характерной поперечной исчерченности. Саркоплазматический ретикулум развит слабо. Поперечная Т-система отсутствует. Клетки контактируют друг с другом

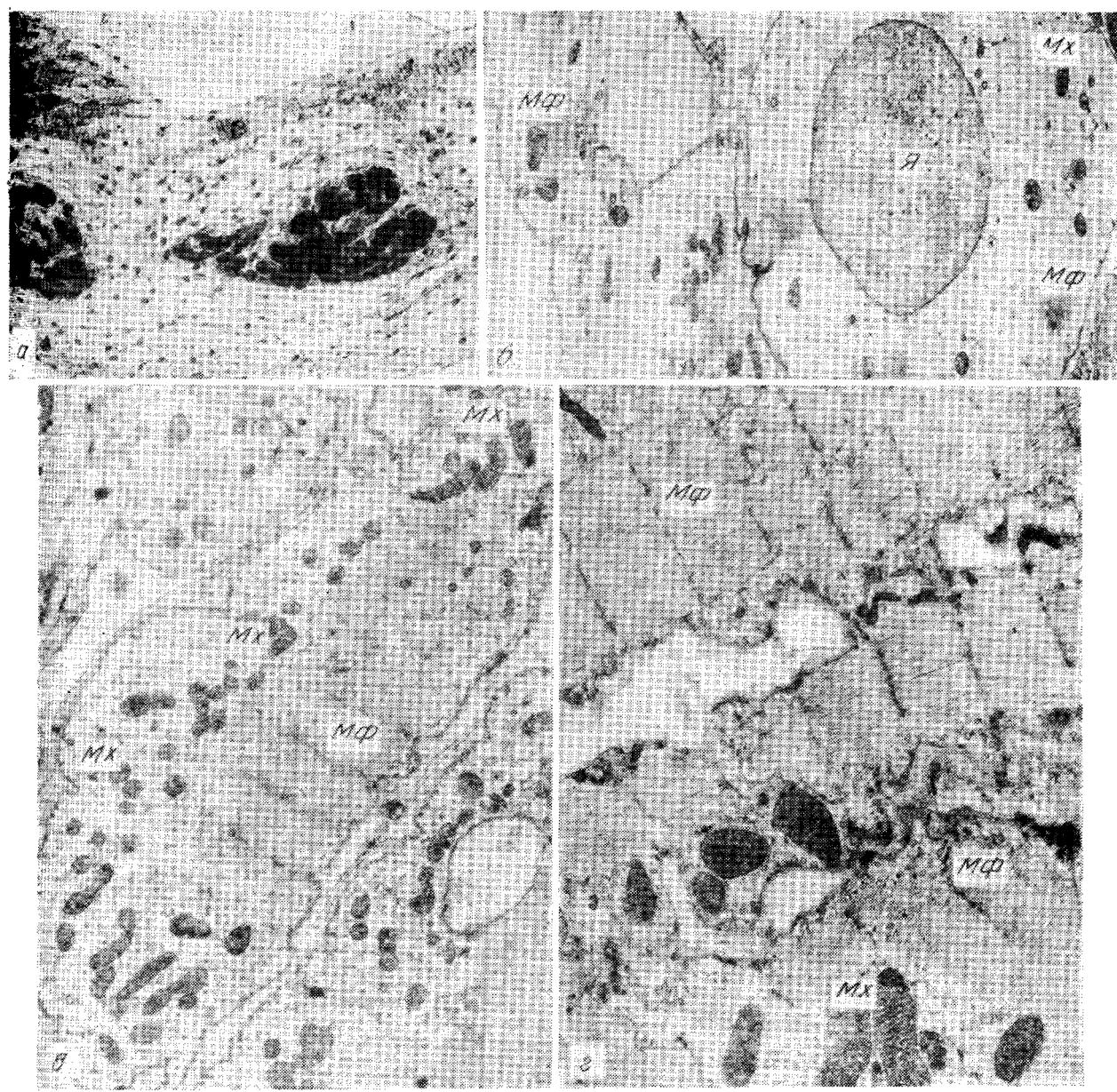


Рис. 1. Структура пейсмекерного образования в атриовентрикулярном клапане сердца кролика.  
 а — локализация пейсмекерных образований в створке клапана: сверху — эндотелий, затем — фиброзный слой и два скопления мышечного типа в строме клапана, представленной рыхлой соединительной тканью (ув. 70  $\times$ ); б — Р-клетки (ув. 6000  $\times$ ); в — переходные клетки (ув. 9000  $\times$ ); г — клетки типа клеток Пуркинье (ув. 12 000  $\times$ ). Здесь и на рис. 2; МФ — миофибриллы; Мх — митохондрии; Я — ядро.

в виде простого сближения плазматических мембран, между которыми имеется расстояние 70—200 Å. Реже обнаруживаются специализированные клеточные соединения в виде десмосом. Клетки такого типа встречались довольно редко, лишь иногда удавалось наблюдать 2—5 клеток вместе, и обнаруживались они, как правило, в глубине данного образования. Характеристика данного типа клеток по внутриклеточной

и межклеточной организации позволяет отнести их к бледным клеткам, обнаруженным впервые в синусном узле сердца млекопитающих и названным Р-клетками [7].

Клетки другого типа, обнаруженные преимущественно в поверхностных частях скопления мышечных клеток, также немногочисленны, характеризовались другой морфологической структурой (рис. 1, г, 1, в). Эти клетки крупных

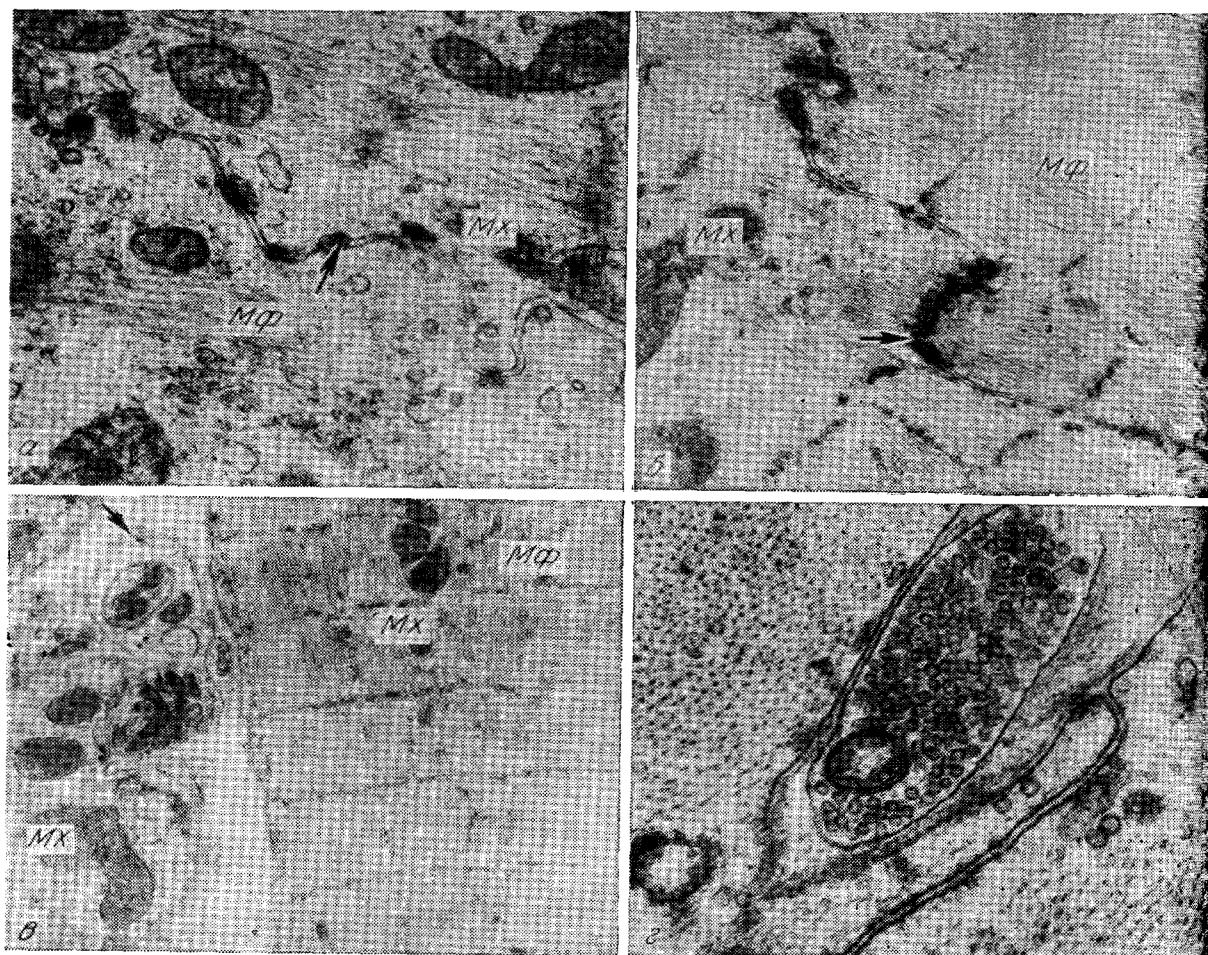


Рис. 2. Виды клеточных контактов и иннервация пейсмекерного образования в атрио-вентрикулярном клапане сердца кролика.

*a* — десмосомальный тип контакта (указан стрелкой) между двумя переходными клетками (ув. 35 000 $\times$ ); *b* — вставочный диск (указан стрелкой), разделяющий две клетки типа клеток Пуркинье (ув. 20 000 $\times$ ); *c* — первое волокно (указано стрелкой) волизи клеток типа клеток Пуркинье (ув. 10 000 $\times$ ); *d* — первое окончание холинергической природы (указано стрелкой) вблизи пейсмекерных клеток. (ув. 45000 $\times$ ).

размеров (диаметр их более 15 мкм) имели центрально расположенное ядро. Почти вся цитоплазма у них заполнена многочисленными пучками миофибрилл с характерной поперечной исчерченностью. Между миофибриллами цепочками располагались митохондрии с многочисленными кристами. В клетках была хорошо развита продольная L-система саркоплазматического ретикулума, в то время как поперечная Т-система, как правило, не выявлялась. В саркоплазме обнаруживались многочисленные гранулы гликогена, развитый комплекс Гольджи. Клетки данного типа соединены друг с другом конец в конец посредством хорошо развитых вставочных дисков (рис. 2, б). Это тип клеток по морфологической характеристике приближается к клеткам типа клеток Пуркинье [8, 9].

Количественно преобладали клетки, которые по их морфологической характеристике можно идентифицировать как клетки переходные между двумя описанными выше типами клеток (рис. 1, в, 2, а). Они характеризовались вариабельностью размеров, формы, содержания внутриклеточных органелл и имели межклеточные контакты от простого сближения плазматических мембран соседних клеток до специализированных соединений в виде десмосом и вставочных дисков.

Клетки переходного типа, а также клетки типа клеток Пуркинье богато иннервированы. Многочисленные нервные окончания, чаще холинергической природы, реже адренергического вида обнаруживались вблизи поверхности этих пейсмекерных клеток (см. рис. 2, в, г).

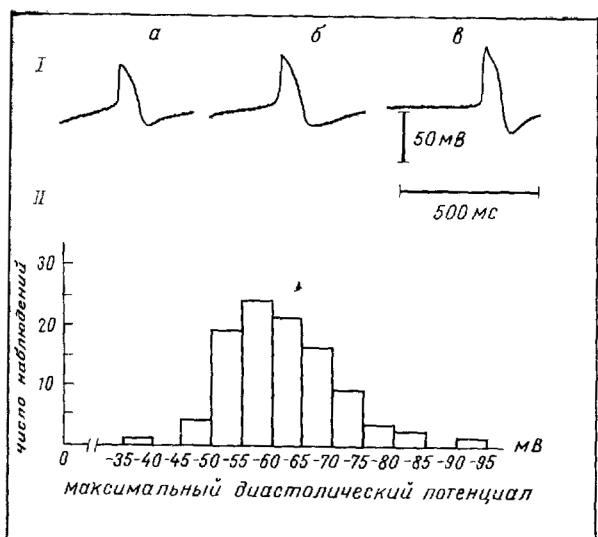


Рис. 3. Электрофизиологические характеристики пейсмекерных клеток атрио-вентрикулярных клапанов сердца кролика.

I — потенциалы действия, зарегистрированные от трех типов пейсмекерных клеток: Р-клеток (а), переходных клеток (б), клеток типа клеток Пуркинье (в). II — гистограмма распределения величины максимального диастолического потенциала по данным 100 наблюдений.

Изучение электрофизиологических свойств описанных выше образований показало, что спонтанно возникающие ПД всех клеток имеют МДД. Частота спонтанных возбуждений была постоянной для одного и того же пейсмекерного образования, в то время как наблюдались значительные ее вариации у разных препаратов (от 20 до 190 уд/мин).

Форма ПД, величина овершута, уровни критического и максимального диастолического потенциалов варьировали в довольно широких пределах во всех препаратах. В пейсмекерных образованиях клапана имеется незначительное количество клеток, которые характеризуются главным переходом МДД в фазу 0 ПД (рис. 3, а), малой величиной овершута (менее 8 мВ), низкими уровнями критического (менее -35 мВ) и максимального диастолического (менее -50 мВ) потенциалов. Электрофизиологические характеристики этих клеток сходны с таковыми у ведущих клеток (Р-клеток) истинных водителей ритма [1, 5, 10, 11]. Клетки второго типа, также немногочисленные, характеризуются более резким переходом МДД в фазу 0 ПД (рис. 3, в), наибольшей величиной овершута (20—23 мВ) и наибольшей величиной максимального диастолического потенциала (от -80 до -95 мВ). По этим электрофизиологическим характеристикам клетки второго типа сходны с клетками типа клеток Пуркинье [1, 13]. Однако по величине критического по-

тенциала (максимальные его значения не превышали -60 мВ) клетки этого типа отличаются от клеток Пуркинье желудочков, для которых величины критического потенциала колеблются от -60 до -80 мВ. Основная же масса пейсмекерных клеток клапана по форме ПД, по величине овершута и по уровням мембранных потенциалов может быть отнесена к переходному типу клеток (рис. 3, б). Таким образом, эти данные хорошо согласуются с морфологическими данными о том, что Р-клетки и клетки типа клеток Пуркинье не столь многочисленны, как клетки переходного типа.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что в створках атрио-вентрикулярных клапанов сердца кролика имеются сложные многоклеточные пейсмекерные образования, клетки которых по морфологическим и электрофизиологическим характеристикам, по преимущественной роли медленного натрий-кальциевого канала в генерации пейсмекерной активности и по преобладанию холинергической иннервации над адренергической сходны с суправентрикулярными водителями ритма сердца.

**ЛИТЕРАТУРА.** 1. Гофман Б. (Hoffman B., Cronefield P.). Электрофизиология сердца. М., 1962. — 2. Макарычев В. А., Кошарская И. Л., Ульянинский Л. С. — «Бюлл. экспер. биол.», 1976, № 5, с. 517—520. — 3. Соколов В. В., Горюн Г. Г. — «Арх. анат.», 1976, № 4, с. 103—106. — 4. Хаброва А. Я. Иннервация сердца и коронарных сосудов. Л., 1975. — 5. Brooks C. Mc. C., Ли Н. Н. The Sinoatrial Pacemaker of the Heart. Springfield, 1972. — 6. Fenoglio J. J., Tuan Duc Pham, Wit A. L. et al. — «Circulat. Res.», 1972, v. 31, p. 417—430. — 7. James T. N., Sherrif L., Fine G. et al. — «Circulation», 1966, v. 34, p. 139—163. — 8. Kawamura K., James T. — «J. Molec. Cell. Cardiol.», 1971, v. 3, p. 31—60. — 9. Sommer J. R., Johnson E. A. — «Am. J. Cardiol.», 1970, v. 25, p. 184—194. — 10. Trautwein W., Uchizono K. — «Z. Zellforsch.», 1963, Bd 61, S. 96—109. — 11. West T. C. — «J. Pharmacol. exp. Ther.», 1955, v. 115, p. 283—291. — 12. Wit A. L., Fenoglio J. J., Wagnerg B. M. et al. — «Circulat. Res.», 1973, v. 32, p. 731—749. — 13. Wit A. L., Rosens M. R., Hoffmann B. F. — «Am. Heart J.», 1974, v. 88, p. 515—524. — 14. Wit A. L., Grapenfield P. F. — «Circulat. Res.», 1976, v. 38, p. 85—95.

#### MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE PACEMAKER FORMATIONS OF THE ATRIOVENTRICULAR VALVES IN THE HEART

N. N. Beskrovnova, V. V. Korolev, I. L. Kosharskaya,  
V. A. Makarychev, L. S. Ulyaninsky

P. K. Anokhin Institute of Normal Physiology of the USSR Academy of Medical Sciences, Moscow; I. M. Sechenov First Moscow Medical Institute

By the microelectrode technique and the method of electron microscopy multicellular formations responsible for generation of the automatic pacemaker activity were found

in the cusps of the atrioventricular valves in the rabbit heart. Cells of different morphological structure were revealed: P-cells, cells of the Purkinje type and transitional cells. These formations have rich innervation, mainly of cholinergic nature. A certain correlation was established between the morphological and electrophysiological characteristics of these cells.

УДК 611.813.1-018.82-086.3

Э. Ланг<sup>1</sup>, Ф. Хайду, И. Киш, З. В. Елисеева  
**ЭЛЕКТРОННО-АВТОРАДИОГРАФИЧЕСКИЙ  
АНАЛИЗ ПРОЕКЦИЙ I И II СОМАТОСЕН-  
СОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ КОРЫ В ЗАДНЕЕ  
ВЕНТРАЛЬНОЕ ЯДРО ТАЛАМУСА**

Институт нормальной физиологии им. П. К. Анохина  
АМН СССР, Москва

(Поступила в редакцию 24/VIII 1976 г. Представлена акад.  
АМН СССР А. М. Чернухом)

С помощью электронно-микроскопической авторадиографии выявляли различия в организации кортикофугальных волокон, происходящих из I ( $C_1$ ) и II ( $C_{11}$ ) соматосенсорных областей коры, в заднем вентральном ядре (ЗВЯ) таламуса. В пределах ЗВЯ распределение кортикофугальных волокон соответствующих зон двух соматосенсорных областей коры отличается друг от друга. Окончания обоих видов волокон устанавливают синаптические контакты главным образом с дистальными дендритами релейных клеток ЗВЯ и значительно реже с дендритами интернейронов типа Гольджи II. Прямой конвергенции волокон, происходящих из двух соматосенсорных областей на одиночных элементах ЗВЯ не наблюдалось (Бюлл. экспер. биол., 1977, № 5, с. 604). Ключевые слова: кортикофугальные волокна; соматосенсорные области коры; заднее вентральное ядро таламуса; дегенерация, авторадиография; электронная микроскопия.

Выполненные ранее электрофизиологические исследования показали, что I и II соматосенсорные области коры оказывают различное влияние на релейные нейроны заднего вентрального ядра (ЗВЯ) таламуса, аксоны которых направляются к I соматосенсорной области коры [3—5]. Особенно четко проявляется модулирующее влияние соматосенсорных областей коры при передаче афферентных сигналов [3] и формировании следовых процессов, развивающихся в ЗВЯ после прохождения афферентного импульса [4].

Каков морфологический субстрат, обеспечивающий различный характер кортикального контроля, механизма передачи сигналов через таламическое реле со стороны двух соматосенсорных областей коры, остается до сих пор неясным. С целью выяснения этих вопросов была предпринята настоящая работа.

Методика исследования. Работа выполнена на 36 кошках весом 2,5—4 кг. В I серии опытов был использован авторадиографический метод. Лейцин- $^3\text{H}$  в

концентрации 100 мкКи/мкл вводился в зону представительства передней конечности I соматосенсорной области ( $C_1$ ) коры (6 кошек) и II соматосенсорной области ( $C_{11}$ ) коры (5 кошек). Микроинъекция изотопа выполнялась шприцем Гамильтона в 4 точках данной зоны в течение 5 мин 4 раза.

В II серии опытов был использован метод электронной микроскопии для исследования дегенерирующих пинакией кортикофугальных волокон. С этой целью осуществляли термоагуляцию зоны представительства передней конечности  $C_1$ -области (5 кошек) и  $C_{11}$ -области коры (4 кошки).

В III серии опытов был использован комплекс для предыдущих методов. У 7 кошек коагулировали зону представительства передней конечности  $C_1$ -области коры и одновременно в соответствующую зону  $C_{11}$ -области коры вводили лейцин- $^3\text{H}$ . У 9 кошек коагуляция  $C_{11}$ -области коры была дополнена введением лейцина- $^3\text{H}$  в  $C_1$ -область коры.

Животных забивали через 66 ч под наркозом в условиях приживенной перфузии через сердце. Кусочки мозга передней, средней и задней частиipsilateralного контраполарального ЗВЯ таламуса дополнительно фиксировали в перфузионных растворах и после обезвоживания заключались в аралдит. Из материалов, полученных животных II серии, готовили ультратонкие срезы, которые изучали в электронном микроскопе IEM-100B. Их блоков, полученных у животных I и III серий, готовили срезы для световой авторадиографии по методу Кортигана-Leblond [12] и для электронно-микроскопической авторадиографии по методу Granboulan [8]. Для световой авторадиографии полутонкие срезы покрывали жидким фотоэмulsionью Ilford-K-5. После проявления в проявителе KODAK-D19 и фиксации в 30% растворе тиосульфата следовые автографы окрашивали толуидином и изучали в световом микроскопе. Число зерен серебра над нейтральной пилью было определено для каждого 3200 мкм<sup>2</sup> среды. Ультратонкие срезы перед покрытием фотоэмulsionью контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по методу Reynolds [16]. Экспозиция ультратонких срезов составляла 4—8 мес. После проявления ультратонких срезов изучали в электронном микроскопе IEM-100B.

Результаты исследования. После введения лейцина- $^3\text{H}$  в зону представительства передней конечности  $C_1$ -области наибольшее количество зерен серебра обнаруживалось в средней части латерального ядра ЗВЯ (п. VPL), где представлена передняя конечность. Здесь число зерен над стандартной площадью составляло в среднем 78 на 3200 мкм<sup>2</sup>. Максимальное число зерен, наблюдавшееся на некоторых участках средней части п. VPL, составляло 9 на 3200 мкм<sup>2</sup>. Количество зерен серебра в передней и задней частях ЗВЯ (п. VPL ant. и п. VPL post.) резко убывает и в медиальном ядре ЗВЯ (п. VPM) и в контраполаральном п. VPL не превышает фоновую активность. Большое количество зерен серебра в средней части п. VPL свидетельствует о том, что сравнительно большое число кортикофугальных волокон, берущих начало в зоне представительства передней конечности  $C_1$ -области коры, оканчивается в данном участке ЗВЯ. Весьма низкая активность наблю-

<sup>1</sup> Из Анатомического института Будапештского университета (дир. акад. Я. Сентаготай).