

Südame areng ja kaasasündinud rikked. Biomehaaniline perspektiiv

Kersti K. Linask^{1,2}

Eesti Arst 2013;
92(2):80–84

Saabunud toimetusse:
13.12.2012
Avaldamiseks vastu võetud:
15.12.2012
Avaldatud internetis:
28.02.2013

¹Lõuna-Florida Ülikool,
St. Petersburg, USA
²Tartu Ülikool

Kirjavahetajaautor:
Kersti K. Linask
kersti.linask@ut.ee

Võtmesõnad:
südame varajane areng,
südamealge lingustumine,
kaasasündinud
südamerikked

Südamerikked ilmnevad umbes 1%-l elusalt sündinud lastest. Uuringud on näidanud, et kõigist kaasasündinud rikketest esinevad kõige sagedamini südamerikked. Viimase aja uuringud on esile toonud mitmeid põhjusi, mis soodustavad kaasasündinud südamerikete kujunemist. Ühelt poolt võib sellel olla molekulaarbioloogiline põhjus – geenimutatsioon –, mis on tingitud nukleotiidide muutustest geenides (1). Teiselt poolt on mõjuteguriks emakasisene keskkond, mida võib mõjutada ema eluviis ja käitumine, näiteks alkoholitarbimine, suitsetamine, narkootikumide, ravimite tarvitamine (2, 3). Samuti võib embrüo areng olla häiritud mõningate toitainete puudusest emal, näiteks foolhappe puudus ja sellest tulenev homotsüsteiinisalduse suurenemine veres (4). Kirjeldatud tegurid võivad mõjutada loote arengut väga varajases perioodis, kui ema veel ei teagi, et ta on rase. Harilikult tuvastab naine raseduse 5.–6. nädalal pärast viljastumist. Tuksuv süda ja vereringe kujuneb lootel juba 3. viljastumisjärgsel nädalal (16.–21. päeval). Seega võivad südame arengut mõjutavad tegurid toimida juba siis, kui naine ei olegi oma rasedusest teadlik. Südamerikete kujunemise põhjuste selgitamiseks on vaja uurida loote arengu väga varajasi perioode.

Munaraku ja spermatoosidi ühinemise (viljastumise) järel tekib üherakuline sügoot, millel on 46 kromosoomi. Ööpäeva möödudes viljastumisest hakkab sügoot jagunema mitmeteks rakkudeks. 3.–4. viljastumisjärgsel päeval moodustavad embrüorakud kerakujulise moorula (kobarloode), milles on embrüonaalsed tüvirakud, millest moodustuvad 200 erinevat inimkeha rakutüüpi. 2 nädala möödumisel viljastumisest on välja kujunenud 3 erinevat kude – lootelehte: eksoderm, endoderm, mesoderm. Mesodermi baasil areneb süda, mis algselt on lineaarne toru, mis pulseerib ja kus on veri. Süda hakkab lööma 3. nädalal pärast viljastumist.

Viimase 20 aasta jooksul on püütud selgitada mehhanisme, mis määravad loote vasema ja parema poole. On leitud mitmeid selles osalevaid gene, näiteks Nodal, Activin A, PitX2C (5). Oma edasises arengus moodustab südameraku lingu paremale, mille edasisel lingustumisel (*looping*) kujunevad südame õoned. Esmalt moodustub ling paremale. Kui loote paremat või vasemat poolt määravad geenid on valesti avaldunud, ei toimu lingustumine õigesti ning selle tulemuseks on mitmed kaasasündinud südamerikked: kaksikväljumine paremast vatsakesest, kaksikuubumine vasemasse

vatsakesse, suurte arterite transpositsioon, ühine atrioventrikulaarne kanal, Fallot' tetraad ja mitmed teised.

Autor osaleb uurimiserühmas, mille eesmärk on välja selgitada, miks süda algselt lingustub paremale ning millised keemilised ja biofüüsikalised tegurid reguleerivad edasist lingustumist südame nelja kambri väljakujunemiseni. Algselt on tupekujulises südamealgmes peristaltiline verevool, nelja kambri moodustumisel paralleelne. Paljud uurijad on katsetega näidanud, et verevooluga seonduvad biofüüsikalised tegurid mõjutavad südame varajast arengut (6, 7). Südame struktuur areneb käsikäes funktsiooniga (8). Embrüo saab edasi areneda vaid siis, kui tema vereringe funktsioneerib normaalselt. Seega kujuneb loote arengus esimesena välja kardiovaskulaarsüsteem.

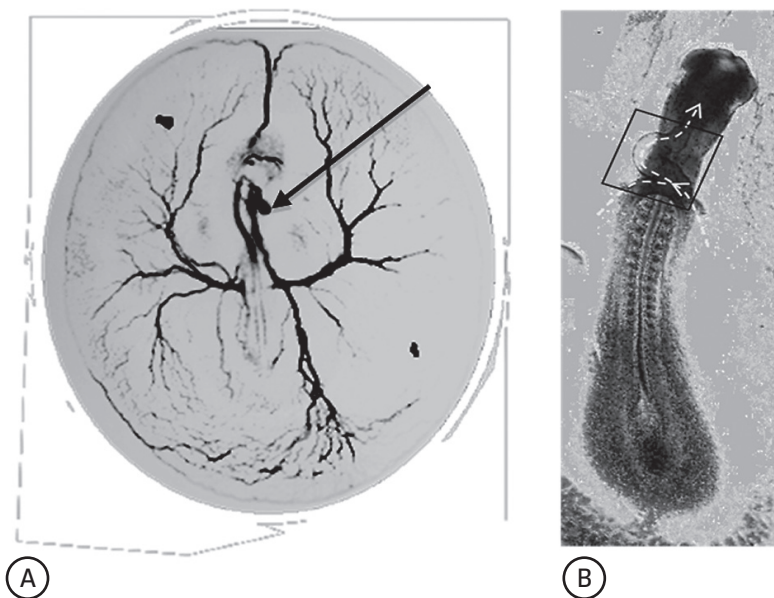
Lingustumine on südame arengus kesksel kohal. Selle mehhanisme on uuritud vuti munades, kus süda hakkab lööma umbes 33 tundi pärast viljastumist. Seejärel algab lingustumine. Lingustumisel paremale pole südameraku enam sümmeetriline ja meenutab C-tähte (*C-looping period*). Joonistel 1 ja 2 on kujutatud mõned südame arengu faasid. Kokkuvõtlikult on neid kirjeldanud 2000. aastal Männer (9).

Autori uurimisrühm kasutab C-lingustumise uurimiseks uut tehnoloogiat – optilist koherentstomograafiat (*optical coherence tomography, OCT*) (10–12).

Südamealgme lingustumisel paremale on soodustavaks teguriks see, et selle väljavoolupooles osas on rohkem mitootilisi rakke, mis paiknevad eelsoole vasakpoolses seinas, sellelähedases kihis ning dorsaalse mesokardi membraanis (13). Südame moodustumise algstaadiumis lahknub kardiovaskulaarsete eellasrakkude populatsioon esimeseks (primaarseks) ja teiseks (anterioorseks) südameväljaks.

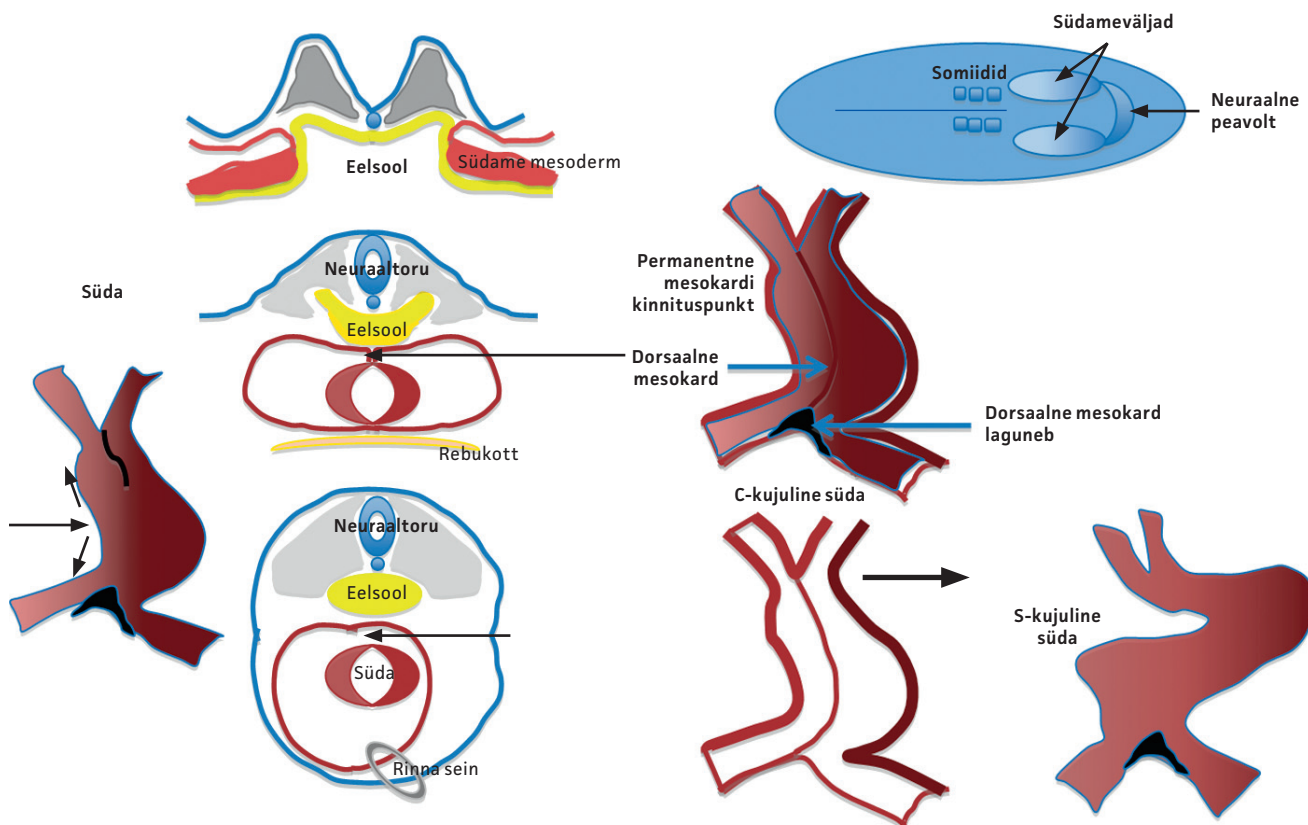
Dorsaalse mesokardi membraanid arenevad vasakul ja paremal pool teise südameväljana (14, 15). Need membraanid liituvad ja süda jääb rippuma dorsaalembraani külge eelsoole juures tsentraalembrüo asendis (vt joonis 2).

Kuna mitoos südamealgme rakkudes on ebauhtlane ja ülekaalukalt vasemal poolel, lingustub südametupp paremale. Samal ajal arenevad väljavoolukulglat moodustavad rakud sümmeetriliselt ja südame tupp kasvab pikemaks. Kui C-kujuline lingustumine on toimunud, võimaldavad



Joonis 1. A. Vuti embrüo koos välja kujunenud verevooluga munakollase peal. Nool näitab südame positsiooni. Selles arenguperioodil on südame lingustumine jõudnud peaaegu viimasesse faasi. **B.** Embrüo on C-lingustumise perioodil. Valged jooned koos noolega näitavad verevoolu suunda.

järgnevad protsessid südametupel muutuda S-kujuliseks. Siin on keskne roll maatriksi metalloproteiin 2 (MMP2) – endopep-



Joonis 2. Vasemal pool on ristlääbilõige embrüost koos südamega. Paremal pool on kujutatud lingustumise käigus moodustuvad C-kujuline ja S-kujuline süda.

tidaasil –, mille aktiveerumisel dorsaalne mesokard jaguneb kaheks osaks, ette ja tahapoole, ning südamel jääb sellega üks kontaktpunkt (13). Seda kutsutakse dorsaalse mesokardi protrusiooniks (DMP). DMP rakkudel puudub MMP2 väljendumus (16). Südame kinnituspunkti fikseerivad mitmed ekstratsellulaarse matriksi molekulid. MMP aktiveerumise täpsed põhjused ei ole teada.

Lingustumise periood on lõppenud, kui südame kodad paigutuvad täpselt vasema ja parema vatsakese peale. Dorsaalne müokard jääb südame keskpunktiks, temast arenevad kodade vahesein, osa südameklappe ja vatsakeste vaheseina proksimaalne osa. Seega kujuneb lingustumise tulemusel südame kambrite paigutus ja ühendus veresoontega. Hiire embrüo südamekambrid ja paralleelne verevool kujuneb 9,5 päeva jooksul ning süda hakkab lööma 8. päeval pärast viljastumist.

Kui südame lingustumine ei ole täpselt sünkroniseeritud, võivad südame struktuuride vale joondumuse tõttu välja kujuneda eespool nimetatud südamerikked: kaksikväljumine paremast vatsakesest, kaksikuubumine vasemasse vatsakesse, suurte arterite transpositsioon, ühine aterioventrikulaarne kanal, Fallot' tetraad ja teised.

Mehhanotransduktsiooni tähtsus südame arengus

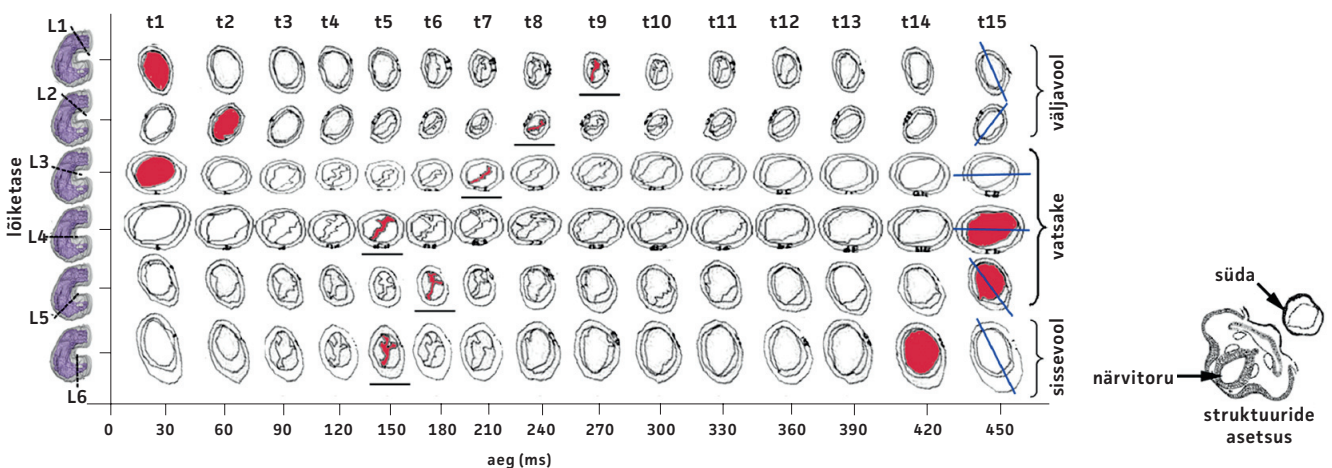
Tuntud on mitmed geenid, morfogeneetilised ained, kasvufaktorid ja teised signaalseerivad ained, mis mõjutavad kudede arengut. Ei ole selge, kuidas keemilised

signaalid mõjutavad või muudavad kudede või elundi kolmemõõtmelist vormi.

Muudatused kolmemõõtmelistes struktuurides sõltuvad ka füüsikalistest teguritest – survest massile. Autor on koostöös inseneridega uurinud biofüüsikalisi mõjusid südame arengule. Mehhanotransduktsiooni uurimine on eraldi teadusharu, kus analüüsitakse rakkudele avalduvate biofüüsikaliste mõjude transformeerumist keemilisteks signaalideks (17–19). On näidatud, et mitmed keemilised signaalid vallanduvad biofüüsikaliste mõjurite toimetel nagu ekstratsellulaarse matriksi välkained fibronektiin ja selle retseptor integriin (20) ja tenastiin C (21) ja tsütoplasma molekulid tubuliin, aktiin, mittemuskulaarne müosiin IIA ja IIB (18).

Rohkem kui sada aastat tagasi esitas Thoma teooria, et veresooneid, millest voolab läbi palju verd, suurenevad ja voolutuse vähenedes regresseeruvad (22). On palju andmeid verevoolu mõjust südame morfoloogia arengule (7, 13, 23). On näidatud, et biofüüsikalised mõjud modelleerivad ka geenide väljendumust (24–26).

Kaua aega ei olnud võimalik uurida verevoolust tingitud surveid endokardile ja müokardile lingustumise ajal, kuna sel perioodil on süda väga väike. Optiline koherentstomograafia (OCT) võimaldab uurida südant läbilõikes piisavast sügavusest hea lahutusvõimega. Reaalajas on võimalik loote südant uurida laseri optilisel koherentsil põhineva 4mõõtmelise tomograafia meetodi (*Fourier laser optical coherence tomography*) abil (11, 12). Kasutatakse laserit sagedusega



Joonis 3. Optilise koherentstomograafia (OCT) lõiked L1–L6 kuuest südamepunktist ühe tsükli ajal kestusega 450 ms. Lõiked L1 ja L2 on väljavoolu piirkonnast, lõiked L3, L4, L5 on vatsakesest ning L6 südame täitumise piirkonnast. Punane joon näitab vastava piirkonna kontraktsiooni aega, kriips sideme all näitab selle kontraktsiooni lõppu. Sinine joon demonstreerib südame kuju muutust löögi ajal. All paremal on läbilõige lootest. Suurendus 300 mikronit.

117 kHz. Reaalajas võimaldab see seade saada 12 kujutist sekundis.

Südame ühe tsükli uurimine

Kasutati 4mõõtmelist OCTd. Eesmärk oli kvantitatiivselt kirjeldada endokardi, müokardi ja südame ekstratsellulaarse matriksi (*cardiac jelly*) omavahelisi suhteid südame tsükli käigus. Jälgiti mehhanotransduktsiooni omadustega südame antikehade muutusi. Uuringud võimaldasid uurimiserühmal saada südame lingustumise kohta uusi andmeid, mida varem ei olnud kirjeldatud. Uuriti vuti südame arengut lingustumise perioodil, jälgides südame diastolit, süstolit ja endokardi, müokardi ning ekstratsellulaarse matriksi omavahelisi suhteid sel ajal.

Oli võimalik tuvastada biofüüsikalisi tegureid, mis koordineerisid verevoolu morfogeneesiga (vt joonis 3). Müokard on diastoli ajal ellipsi kujuga ja süstoli ajal ümara kujuga. Terve südame tsükli ajal on endokard ebakorrapärase ehitusega, palju volte on vatsakese endokardis. Voldid võimaldavad endokardil südame täitumise ajal laieneda. Ilmneb, et väljavoolukulga kohal on süda kõige kitsam ja seal on kõige suurem rõhk. Selles piirkonnas arenevad hiljem välja südameklapid. Võimalik, et hemodünaamiline rõhk mõjutab südameklappide arengut (27–29).

Südame positsioon on lingustumise ajal orienteeritud kindlas suunas, kinnitades kahes punktis, kus leiduvad ekstratsellulaarse matriksi molekulid fibronektiin ja tenastiin C, mis on väljendunud endokardi ja südame välise müokardi juures (27). Samuti on nende rakkude tsütoplasmas väljendunud tubuliin, mis kooskõlastab rakuvälised signaalid rakusisese tsütoskeleti struktuuriga. Need kinnituskohad jaotuvad südame paremaks ja vasemaks pooleks (vt joonis 3). Südame kokkutõmbe ajal vatsakese endokard voldistub ja süda nagu väänab vere välja analoogselt täiskasvanu südamega.

On näidatud, et splanhopleuraalse membraani läbilõikamisel süda ei lingustu normaalselt ja muutuvad müokardi karakteristikud. Meie uurimiserühmal õnnestus OCT-uuringuga selgitada, et splanhopleuraalne membraan kontakteerub iga tsükli ajal verega, diastoli ajal veri liigub algul mööda membraani ja süstoli ajal eemaldub sellest (27). Varasemast on teada, et müokardiotsüüdid on varustatud mikroripsetega

(30, 31). Kui viimased on transgeneetiliselt muundunud, ei arene süda normaalselt (32). Autori hüpotees on, et mikroripseted edastavad infot selle kohta, kui lähedal on müokard membraanile ja kui suur on membraani surve südamele (27). Kuna süda kasvab ja lingustub iga löögiga ning iga löögi ajal osa südame seinast kontakteerub membraaniga, mõjutab kujunev surve südame kasvu. See mehhanism toimib, kuni lingustumine jõuab lõpule ja südame kambriid paigutuvad õigele kohale.

OCT-uuringul on näha, et areneva südame vatsakeste osas on fibrillaarset materjali, mis läbib ekstratsellulaarse matriksi endokardi ja müokardi vahel. Rakkude värvimisel mittelihasmüosiiniga IIB (NMM-IIB) oli näha, et nn pioneerrakud liiguvad müokardist ekstratsellulaarsesse matriksisse, moodustades seal rakkude võrgustiku (27). Iga südame löögi ajal mõjutab vere rõhk neid rändavaid ja jagunevaid pioneerrakke, soodustades südame trabekulite moodustumist.

Krüppel-like factor 2 (KLF2) – rakkude transkriptsioonifaktor – on seotud ka hemodünaamika regulatsiooniga (32). KLF2 geeni väljendumust mõjutab pulseeriva verevoolu surve rakkudele (26, 33, 34).

Autori töörühm on uurinud vaid üht südame tsükli. Tulevikus peavad uuringud selgitama verevoolu surve ja KLF2 geeni väljendumuse vastastikuse mõju mehhanisme ja seda, kuidas need toimivad juhul, kui südame arengus on häired. Praegused uuringud kinnitavad hemodünaamika olulist osa kardiovaskulaarse süsteemi arengus.

AUTORI VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Artikli autor kinnitab, et tal puudub huvide konflikt seoses artikliga.

SUMMARY

Embryonal development of the heart and congenital heart defects. Biomechanical perspective

Kersti K. Linask^{1,2}

The vertebral heart arises from two bilateral cardiac fields. The cardiac tube and the blood flow will function about three weeks after fertilisation.

¹ University of South Florida, St. Petersburg, USA

² University of Tartu, Tartu, Estonia

Correspondence to: Kersti K. Linask
kersti.linask@ut.ee

Keywords: embryonal development of the heart, looping of the cardiac tube, congenital heart defects

Looping of the cardiac tube is the basic mechanism of formation of the atria, the ventricles and the outflow tract. Looping is regulated by the genetic factors releasing signalling chemicals, but also by haemodynamic factors. The structure and the function of the heart develop simultaneously.

Divergence from the normal looping mechanism may result in various congenital heart defects.

For investigation of the looping mechanism, optical coherence tomography has been introduced. Four-dimensional optical coherence tomography is used for quantitative measurement of a single cardiac cycle. Recent data support the importance of haemodynamics in the development of the cardiovascular system.

KIRJANDUS/REFERENCES

1. Srivastava D. Genetic regulation of cardiogenesis and congenital heart disease. *Annu Rev Pathol* 2006;1:199–213.
2. Serrano M, Han M, Brinez P, Linask KK. Fetal alcohol syndrome: cardiac birth defects in mice and prevention with folate. *Am J Obstet Gynecol* 2010;203:75 e77–75 e15.
3. Han M, Neves AL, Serrano M, Brinez P, Huhta JC, Acharya G, et al. Effects of alcohol, lithium, and homocysteine on nonmuscle myosin-II in the mouse placenta and human trophoblasts. *Am J Obstet Gynecol* 2012;2140:e2017–40.
4. Han M, Serrano MC, Lastra-Vicente R, Brinez P, Acharya G, Huhta JC, et al. Folate rescues lithium-, homocysteine- and Wnt3A-induced vertebrate cardiac anomalies. *Dis Model Mech* 2009;2:467–78.
5. Harvey RP. Links in the left/right axial pathway. *Cell* 1998;94:273–6.
6. Hove JR, Koster RW, Forouhar AS, Acevedo-Bolton G, Fraser SE, Gharib M. Intracardiac fluid forces are an essential epigenetic factor for embryonic cardiogenesis. *Nature* 2003;424:172–7.
7. Ishiwata T, Nakazawa M, Pu WT, Tevosian SG, Izumo S. Developmental changes in ventricular diastolic function correlate with changes in ventricular myoarchitecture in normal mouse embryos. *Circ Res* 2003;93:857–65.
8. Linask KK. Regulation of heart morphology: current molecular and cellular perspectives on the coordinated emergence of cardiac form and function. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2003;69:14–24.
9. Jenkins MW, Adler DC, Garghesha M, Huber R, Rothenberg F, Belding J, et al. Ultrahigh-speed optical coherence tomography imaging and visualization of the embryonic avian heart using a buffered fourier domain mode locked laser. *Optics Express* 2007a;15:6251–9.
10. Jenkins MW, Chughtai OQ, Basavanahally AN, Watanabe M, Rollins AM. In vivo gated 4D imaging of the embryonic heart using optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics* 2007b;12:030505–03.
11. Jenkins MW, Rothenberg F, Roy D, Nikolski VP, Hu Z, Watanabe M, et al. 4D embryonic cardiography using gated optical coherence tomography. *Opt Express* 2006;14:736–48.
12. Linask KK, Han M, Cai DH, Brauer PR, Maniasstry SM. Cardiac morphogenesis: matrix metalloproteinase coordination of cellular mechanisms underlying heart tube formation and directionality of heart looping. *Dev Dynamics* 2005;233:739–53.
13. Rochais F, Mesbah K, Kelly RG. Signaling pathways controlling second heart field development. *Circ Res* 2009;104:933–42.
14. Ward C, Stadt H, Hutson M, Kirby ML. Ablation of the secondary heart field leads to tetralogy of Fallot and pulmonary atresia. *Dev Biol* 2005;284:72–83.
15. Wessel A, Anderson RH, Markwald RR, Webb S, Brown NA, Viragh S, et al. Atrial development in the human heart: an immunohistochemical study with emphasis on the role of mesenchymal tissues. *Anat Rec* 2000;259:288–300.
16. Ingber DE. Tensegrity: the architectural basis of cellular mechanotransduction. *Ann Rev Physiology* 1997;59:575–99.
17. Linask KK, Vanauker M. A role for the cytoskeleton in heart looping. *ScientificWorldJournal* 2007;7:280–98.
18. Mammoto T, Ingber DE. Mechanical control of tissue and organ development. *Development* 2010;137:1407–20.
19. Millward-Sadler SJ, Wright MO, Davies LW, Nuki G, Salter DM. Mechanotransduction via integrins and interleukin-4 results in altered aggrecan and matrix metalloproteinase 3 gene expression in normal, but not osteoarthritic, human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2000;43:2091–9.
20. Chiquet M, Gelman L, Lutz R, et al. From mechanotransduction to extracellular matrix gene expression in fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793:911–20.
21. Thoma R. Untersuchungen über die Histogenese und Histomechanik des Gefäßsystems. Ferdinand Enke, Stuttgart 1893.
22. Taber L, Zhang J, Perucchio R. Computational model for the transition from peristaltic to pulsatile flow in the. *J Biomech Eng* 2007;129:441–9.
23. Taber LA. Biomechanics of cardiovascular development. *Annu Rev Biomed Eng* 2001;3:1–25.
24. Groenendijk B, Hierck B, Gittenberger-de-Groot A, Poelmann R. Development-related changes in the expression of shear stress responsive genes KLF-2, ET-1, and NOS-3 in the developing cardiovascular system of chicken embryos. *Dev Dyn* 2004;230:57–68.
25. Groenendijk BC, Hierck BP, Vrolijk J, Baiker M, Pourquie MJ, Gittenberger-de Groot AC, et al. Changes in shear stress-related gene expression after experimentally altered venous return in the chicken embryo. *Circ Res* 2005;96:1291–8.
26. Garita B, Jenkins M, Han M, Zhou C, VanAuker M, Rollins A, et al. Blood flow dynamics of one cardiac cycle and relationship to mechanotransduction and trabeculation during heart looping *amer. J. Physiol-Heart Circulatory Physiol* 2001;300:H879–91.
27. Butcher JT, McQuinn TC, Sedmera D, et al. Transitions in early embryonic atrioventricular valvular function correspond with changes in cushion biomechanics that are predictable by tissue composition. *Circ Res* 2007a;100:1503–11.
28. Butcher JT, Sedmera D, Guldberg RE, et al. Quantitative volumetric analysis of cardiac morphogenesis assessed through micro-computed tomography. *Developmental Dynamics* 2007b;236:802–9.
29. Manasek FJ. A light and electron microscopic study of myocardial development in the early chick embryo. *J Morph* 1968;125:329–66.
30. Slough J, Cooney L, Brueckner M. Monocilia in the embryonic mouse heart suggest a direct role for cilia in cardiac morphogenesis. *Dev Dyn* 2008;237:2304–14.
31. Lee J, Yu Q, Shin J, Sebзда E, Bertozzi C, Chen M, et al. Klf2 is an essential regulator of vascular hemodynamic forces in vivo. *Dev Cell* 2006;11:845–57.
32. Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J Morphol* 1951;88:49–92.