

## Souhrn

Funkce orgánu je podmíněna jeho strukturou. Toto tvrzení nabývá zvláštní význam u srdce, jež je jedním z prvních funkčních orgánů v zárodku a během vlastního vývoje musí průběžně uspokojovat veškeré potřeby rostoucího organismu. U většiny obratlovců jsou klíčovými momenty v morfogeneze stěny komor srdečních 1) vznik trabekul, umožňující zvýšení masy myokardu za absence koronárních cév, 2) jejich kompaktizace v souvislosti se zapojením koronární perfuse a 3) vznik mnohvrstevné spirálovité architektury v kompaktním myokardu, zvláště patrné u levé komory. Během vývoje probíhají adaptace na změněnou pracovní zátěž formou hyperplasie, tj. zmnožováním srdečních buněk na rozdíl od hypertrofie (zvětšování buněk) obvyklé u dospělého srdce. Převodní systém v komoře slouží především ke koordinované propagaci elektrického vzruchu v komorovém myokardu. Naše studie charakterizovaly posloupnost vzniku a vyzrání jednotlivých částí převodního systému u kuřecího zárodka a vliv hemodynamiky na tento proces a ukázaly paralely mezi vývojem převodního systému u ptáků a savců. V další práci se chceme zaměřit na podrobné studium mechanismů regulujících vývoj převodního systému v komoře.

## Summary

Function of an organ is determined by its structure. This rings true particularly for the heart, which is one of the first functioning organs during development, and during its morphogenesis must support the circulatory demands of the growing organism. In a majority of vertebrates, the key morphogenetic steps during ventricular development are 1) emergence of trabeculae, which enable increase of myocardial mass in the absence of coronary circulation, 2) their compaction correlating with beginning of coronary perfusion, and 3) development of multilayered spiral architecture, most distinct in the left ventricle. During development myocardium adapts to altered functional loading by hyperplasia (increase in cell number), in contrast to hypertrophy (increase in cell size) seen in the adult heart. Ventricular conduction system serves above all the coordinated spread of electrical activation through the working myocardium. Our studies have 1) characterized the sequence of origin and functional deployment of the various components of cardiac conduction system in the chick embryo, including the effects of hemodynamics upon this process, and showed parallels between conduction system development in birds and mammals. In our future work we want to focus upon detailed study of mechanisms regulating ventricular conduction system induction and patterning.

## Úvod

### A. Současný stav poznání v oboru

Tématika vztahu struktury a funkce je v morfologii a fyziologii velmi oblíbená. Poněkud složitější je odpověď na otázku, zda funkce vyplývá ze struktury, anebo opačně struktura je podmíněna funkcí. Vývojový pohled na tuto problematiku nám odpověď někdy usnadňuje. Například v případě končetin, které jsou během zárodečného vývoje prakticky nefunkční, je jasné, že mezidruhové odlišnosti jsou podmíněny geneticky, a tudíž, že funkční rozdíly jednoznačně plynou ze strukturální rozmanitosti. Poněkud složitější je to však v případě srdce, jehož vývoj je do značné míry svázán nutností adekvátně podporovat během téměř celé embryogeneze oběh krve v zárodku. Vzhledem k těmto omezením rekapituluje vývoj srdce do značné míry fylogenezi, a využívá tak na jednotlivých stádiích vývoje řešení, jež se osvědčila na nižších vývojových patrech stromu života.

Zatímco dospělé srdce teplokrevných obratlovců je tlustostěnný svalový orgán s přesně definovanou komplexní spirálovitou architekturou svalových vláken (Streeter, 1979), akce srdeční začíná již na stádiu primitivní trubice (Kamino et al., 1981). Tato „peristaltoidní“ pumpa pracuje podle velmi odlišných pravidel nežli srdce na pozdějších stádiích (Forouhar et al., 2006) – musí s obejít bez chlopní, koronárních cév a s výjimkou definovaného pacemakeru ve vtokové části i převodního systému.

Přestavba architektury této trubice do výsledné podoby není přímočará. Nejprve dojde v komorách, stále za absence koronárního řečiště, ke vzniku srdeční trámčiny – trabekul, které významně zvýší povrch pro difúzi kyslíku a živin (Minot, 1901), což umožní nárůst masy myokardu. Přestavba této houbovité struktury (Rychter and Rychterova, 1981; Blausen et al., 1990) do podoby kompaktní svaloviny časově koreluje s napojením koronárního řečiště, vytvořeného z epikardu, na aortu a sinus coronarius (Tomanek, 1996).

Architektura těchto trámců má významné funkční aspekty. Radiální uspořádání trabekul koreluje s koncentrickou kontrakcí komor. Jejich lamelární struktura vytváří jakési kapsy, které umožňují laminární proudění krve bez významného mísení okysličené a odkysličené krve. Toto uspořádání je nakonec patrné i u obojživelníků a plazů, kde je takto suplována funkce nevytvořené mezikomorové přepážky. V neposlední řadě slouží trabekuly svým napojením na canalis atrioventricularis i k rozvedení elektrického vzruchu do komorového myokardu – funkce, jež byla postulována před více lety (de Jong et al., 1992), ale prokázána poměrně nedávno.

Problematika adaptací embryonálního srdce na experimentální změny v pracovní zátěži je poměrně málo zmapovaná. S výjimkou několika málo fetálních savčích modelů jako morče (Saiki et al., 1997) nebo ovce (Pinson et al., 1991; Rudolph, 2000; Samson et al., 2000) je většina experimentálních prací prováděna na kuřecím zárodku, který je zvláště na časných stádiích neskonale lépe přístupný různým mechanickým či farmakologickým intervencím, jejichž efekt může být monitorován vizuálně i pomocí sofistikovaných zobrazovacích metod.

Převodní systém srdeční slouží k automatické generaci a koordinované propagaci elektrického impulsu v srdci. Jeho poruchy vedou ke vzniku arytmií, jež přispívají významnou měrou ke kardiovaskulární morbiditě a mortalitě. Jednotlivé komponenty byly popsány morfologicky na přelomu 19. a 20. století klasiky jako J. E. Purkyně, S. Tawara, W. Ashoff, A. Keith, M. Flack, a J. His (shrnuté (Suma, 2001)), ale o jejich ontogenezi a fylogenezi bylo donedávna známo jen málo (Moorman et al., 1998).

Funkční diverzifikace převodního systému u dospělého člověka se projevuje rozdílnou rychlostí šíření vzruchu jeho jednotlivými částmi. Oproti pracovnímu myokardu komory, jež vede rychlostí 0.4 m/s, vzruch v Hisově svazku a Tawarových raménkách se šíří rychlostí 2 m/s, a v Purkyňových vláknech 1 m/s. Vidíme zde, že rychlost klesá od centra směrem k periférii. Pro srovnání, síňo-komorový uzol, jež zodpovídá za časovou prodlevu mezi kontrakcí síní a komor, vede pouze rychlostí 0.1 m/s. Toto uspořádání vede k časnější aktivaci hrotu srdečního oproti bázi (Durrer et al., 1961). To má za následek i kontrakční vlnu směřující od hrotu směrem k velkým cévám, které jsou anatomicky lokalizovány ve stejné úrovni jako síňo-komorové chlopně, jimiž krev do komor přitéká. Krev je tak během systoly komor efektivně vypuzována směrem k výtokové části.

Během vývoje prochází srdce složitými změnami, které postupně z primitivní trubice vytvoří srdeční kličku a posléze dospělý čtyřoddílový orgán vyšších obratlovců. Tyto změny morfologie vyžadují i odpovídající změny v sekvenci šíření vzruchu. Zatímco v primitivní srdeční trubici je vzruch veden pomalu a izotropicky (Kamino, 1991), již na stádiu srdeční kličky dochází k vytvoření pomalu a rychle vedoucích oddílů (Arguello et al., 1986). Zatímco budoucí předsíň a komory vedou vzruch poměrně rychle, oblast síňo-komorového kanálu a výtoková část (konotrunkus) se vyznačují pomalou aktivací a peristaltoidní kontrakcí. Tím působí jako svěrače, nahrazující tak funkci dosud nevytvořených srdečních chlopní (de Jong et al., 1992). Na těchto časných vývojových stádiích

jsou nejrychleji vedoucími tkáněmi komorové trabekuly (de Jong et al., 1992; Reckova et al., 2003). Ty tvoří primitivní, ještě nediverzifikovaný základ Hisova-Purkyněho systému. Další diferenciací, vedoucí k rozdílným rychlostem vedení vzruchu, se posléze vydělí Tawarova raménka, což se projeví změnou aktivace komor na definitivní směr od hrotu k bázi (Chuck et al., 1997; Rentschler et al., 2001).

Kuřecí zárodek je oblíbeným experimentálním modelem pro studium vývoje srdce. Oproti savčímu zárodku, který je zaštitěn před experimentálními zásahy mateřským organismem, jsou možnosti pozorování, fyziologických měření a experimentálních pertrurbací značně rozšířeny (Clark et al., 1986; Clark et al., 1989; Clark et al., 1991). Dalšími výhodami oproti savčím modelům jsou pak jeho autonomie, jednoduchost inkubace a také příznivá cena. I když v poslední době stoupá obliba myši vzhledem k možnostem genetických manipulací, kuřecí zárodek stále hraje významnou úlohu v klasické experimentální embryologii (Antin et al., 2004).

Vzhledem k dávné fylogenetické separaci mezi savci a ptáky vyvstává často otázka, do jaké míry je možné experimentální poznatky, získané na modelu kuřecího zárodku, extrapolovat na savčí modely a potažmo na člověka. Oповěď na tuto zásadní otázku, které bylo věnováno dost energie, by se dala stručně shrnout takto: při pečlivém porovnání se najde dosti odlišností v detailech, ale principy a mechanismy jsou někdy až překvapivě shodné. Z těchto důvodů se v této práci věnujeme i porovnání jednotlivých experimentálních modelů.

Určité výhody pro některé otázky ve vývojové biologii skýtají i modely nižších obratlovců (zebríčka - *Danio rerio* a drápatka - *Xenopus laevis*). Hlavními přednostmi těchto modelových systémů je jejich vývoj za pokojové teploty, transparence časných stádií, a unikátní možnost snadných experimentálních manipulací již od stádia zygoty. Specifickou výhodou pro studium vývoje srdce a oběhové soustavy je pak fakt, že časná stádia jsou na rozdíl od teplokrevných obratlovců nezávislá na funkci srdce a přítomnosti oběhu, což unožňuje analýzu i takových fenotypů, jež jsou u vyšších obratlovců časně letální. Přes všechny tyto výhody ryb a objživelníků je zde otázka extrapolace dat na vyšší obratlovce ještě aktuálnější.

O mechanismech řídicích specifikaci a diferenciaci specializovaných tkání převodního systému je známo velmi málo. Teprve nedávno byly zodpovězeny některé zásadní otázky, jako například původ převodních tkání. Ty jsou odvozeny z komorového myokardu (Gourdie et al., 1995; Cheng et al., 1999), a nepocházejí tedy z buněk neurální lišty, jak bylo postulováno na základě jejich exprese některých neuronálních markerů (Gorza et al., 1994). Významný byl dále objev diferenciacie periarteriálních Purkyňových vláken ve stěně komor v blízkosti větví věnčitých tepen (Gourdie et al., 1998), jež vedla k objevu endotelinu jako kandidátní signální molekuly pro indukci převodního systému (Takebayashi-Suzuki et al., 2000). Postupně jsou identifikovány i transkripční faktory potřebné ke konverzi buněk pracovního myokardu v převodní tkáň (Thomas et al., 2001). Přestože byla nedávno popsána kombinace genů nutných pro diferenciaci sinuatriálního uzlu (Mommersteeg et al., 2007), podobná kaskáda specifikující komorový převodní systém je dosud neznámá. Přes všechny výše uvedené poznatky je tato oblast stále předmětem intenzivního výzkumu.

B. Vlastní přehledné články k dané problematice

Na téma předkládané práce jsme přispěli několika recenzovanými přehledovými články. První vlašťovkou se stal dopis editorovi (Sedmera a Thomas, 1996), poukazující na nepřesnosti v morfologickém popisu trabekul molekulárními biologi (zvláště jejich přirovnání ke klkům). Naše zkušenosti z vývoje komorové myokardiální architektury včetně řady originálních dat jsme publikovali v roce 2000 (Sedmera et al., 2000). Tato práce je i v současnosti hojně citována. Aktualizaci jsme provedli v roce 2003 (Wessels a Sedmera, 2003) se zvláštním zaměřením na myší model, jehož se dotýká většina současného výzkumu v tomto oboru. Pro účely dětské kardiologie jsme shrnuli naše poznatky o přestavbě myokardu u syndromu levostranné srdeční hypoplázie (Sedmera et al., 2005). Neutuchající zájem čtenářů o tuto problematiku je dokumentován vyžádaným článkem na téma struktury a funkce myokardu (Sedmera, 2005). Prozatím posledním příspěvkem byla stať zaměřena na čtenáře z kliniky (Sedmera a McQuinn, 2008), a cílem zde bylo poskytnout vývojový pohled na architekturu myokardu pro lepší pochopení srdečního selhání.

V oblasti vývoje převodního systému jsme začali přispívat o něco později (Gourdie et al., 2003) s cílem popularizovat v oboru některé zásadní poznatky z naší laboratoře, jako například myogenní původ buněk v převodním systému. Dva recentní články (Sedmera 2007; Sedmera a Kurková, 2007) jsou pak zaměřeny na čtenáře u nás doma.

Sedmera D, Thomas PS. 1996. Trabeculation in the embryonic heart. *Bioessays* 18:607. IF 5,402, citováno 11x<sup>1</sup>

- 1) Goetz SC, Conlon FL: **CELL CYCLE 6: 16, 1974-1981, 2007**  
Breckenridge RA, Anderson RH, Elliott PM: **CARDIOLOGY IN THE YOUNG 17: 2, 124-129, 2007**
- 2) Risebro CA, Riley PR: **THE SCIENTIFIC WORLD JOURNAL 6, 1862-1880, 2006, 2005**
- 3) Kang JO, Sucov HM: **MECHANISMS OF DEVELOPMENT 122: 1, 57-65, 2005**
- 4) Chuck ET, Meyers K, France D, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 990-1000, 2004**
- 5) Watt AJ, Battle MA, Li JX, et al.: **PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 101: 34, 12573-12578, 2004**
- 6) Tidcombe H, Jackson-Fisher A, Mathers K, et al.: **PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 100: 14, 8281-8286, 2003**
- 7) Chen THP, Chang TC, Kang JO, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 250: 1, 198-207, 2002**
- 8) Sucov HM: **ANNUAL REVIEW OF PHYSIOLOGY 60, 287-308, 1998**

Sedmera D, Pexieder T, Vuillemin M, Thompson RP, Anderson RH. 2000. Developmental patterning of the myocardium. *Anat Rec* 258:319-337. IF 1,801, citováno 116x

- 1) Redies C, Heyder J, Kohoutek T, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 237: 9, 2496-2505, 2008**
- 2) Rojas A, Kong SW, Agarwal P, et al.: **MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY 28: 17, 5420-5431, 2008**
- 3) Pleperhoff S, Franke WW: **EUROPEAN JOURNAL OF CELL BIOLOGY 87: 7, 413-430, 2008**
- 4) Lu SY, Sheikh F, Sheppard PC, et al.: **BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS 373: 2, 270-274, 2008**
- 5) Celebi AS, Gulel O, Cicekcioglu H, et al.: **INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY 128: 1, E22-E24, 2008**
- 6) Masci PG, Dymarkowski S, Bogaert J: **JOURNAL OF CARDIOVASCULAR MEDICINE 9: 5, 435-449, 2008**
- 7) Liu X, Kino A, Francois C, et al.: **CLINICAL IMAGING 32: 3, 223-226, 2008**
- 8) Tufekcioglu O, Aras D, Yildiz A, et al.: **EUROPEAN JOURNAL OF ECHOCARDIOGRAPHY 9: 3, 344-350, 2008**

<sup>1</sup> Počet citací podle WoS, včetně autocitací. Citační ohlasy očištěné od autocitací jsou uvedeny níže.

- 9) Kobza R, Jenni R, Erne P, et al.: **PACE-PACING AND CLINICAL ELECTROPHYSIOLOGY 31: 4, 461-467, 2008**
- 10) Martin-Puig S, Wang Z, Chien KR: **CELL STEM CELL 2: 4, 320-331, 2008**
- 11) Cho YH, Jin SJ, Je HC, et al.: **YONSEI MEDICAL JOURNAL 48: 6, 1052-1055, 2007**
- 12) Kohli SK, Pantazis AA, Shah JS, et al.: **EUROPEAN HEART JOURNAL 29: 1, 89-95, 2008**
- 13) Hoedemaekers YM, Caliskan K, Majoor-Krakauer D, et al.: **EUROPEAN HEART JOURNAL 28: 22, 2732-2737, 2007**
- 14) Nakamura T, Colbert M, Krenz M, et al.: **JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION 117: 8, 2123-2132, 2007**
- 15) Goetz SC, Conlon FL: **CELL CYCLE 6: 16, 1974-1981, 2007**
- 16) Wagner M, Siddiqui MAQ: **EXPERIMENTAL BIOLOGY AND MEDICINE 232: 7, 866-880, 2007**
- 17) Toyofaku T, Kikutauni H: **SEMIAPHORINS: RECEPTOR AND INTRACELLULAR SIGNALING MECHANISMS** Book Series: **ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY 600, 109-117, 2007**
- 18) Breckenridge RA, Anderson RH, Elliott PM: **CARDIOLOGY IN THE YOUNG 17: 2, 124-129, 2007**
- 19) Sengupta PP, Krishnamoorthy VK, Korinek J, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY 20: 5, 539-551, 2007**
- 20) Poss KD: **SEMINARS IN CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY 18: 1, 36-45, 2007**
- 21) Smith TK, Bader DM: **SEMINARS IN CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY 18: 1, 84-89, 2007**
- 22) Ozkutlu S, Bostan O, Karagoz T, et al.: **PEDIATRICS INTERNATIONAL 49: 2, 172-176, 2007**
- 23) Hughes ML, Carstensen B, Wilkinson JL, et al.: **CARDIOLOGY IN THE YOUNG 17: 1, 56-63, 2007**
- 24) Risebro CA, Riley PR: **THE SCIENTIFIC WORLD JOURNAL 6, 1862-1880, 2006**
- 25) Furukawa S, Tinney JP, Tobita K, et al.: **JOURNAL OF OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY RESEARCH 33: 2, 114-127, 2007**
- 26) Jenni R, Oechslin EN, van der Loo B: **HEART 93: 1, 11-15, 2007**
- 27) Sengupta PP, Korinek J, Belohlavek M, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY 48: 10, 1988-2001, 2006**
- 28) Eisenberg CA, Burch JBE, Eisenberg LM: **STEM CELLS 24: 5, 1236-1245, 2006**
- 29) Tobita K, Liu LJ, Janczewski AM, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 4, H1829-H1837, 2006**
- 30) Tomanek RJ, Hansen HK, Dedkov EI: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 288A: 9, 989-999, 2006**  
Baudino TA, Carver W, Giles W, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 3, H1015-H1026, 2006**
- 31) Bhattacharya S, MacDonald ST, Farthing CR: **CLINICAL SCIENCE 111: 1, 35-46, 2006**
- 32) Coghlan C, Hoffman J: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S4-S17** Supplement: **Suppl. 1, 2006**
- 33) Kocica MJ, Corno AF, Carreras-Costa F, et al.: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S21-S40** Supplement: **Suppl. 1, 2006**
- 34) Corno AF, Kocica MJ, Torrent-Guasp F: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S61-S68** Supplement: **Suppl. 1, 2006**
- 35) Manner J: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S69-S74** Supplement: **Suppl. 1, 2006**
- 36) Goldstone HMH, Stegeman JJ: **DRUG METABOLISM REVIEWS 38: 1-2, 261-289, 2006**
- 37) Chen JW, Zhou B, Yu QC, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 98: 7, 923-930, 2006**
- 38) Togi K, Yoshida Y, Matsumae H, et al.: **BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS 343: 1, 144-151, 2006**
- 39) Freedom RM, Yoo SJ, Perrin D, et al.: **CARDIOLOGY IN THE YOUNG 15: 4, 345-364, 2005**

- 40) Stennard FA, Harvey RP: **DEVELOPMENT 132: 22, 4897-4910, 2005**
- 41) Keller BB: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 289: 3, H975-H976, 2005**
- 42) Frischknecht BS, Jost CHA, Oechslin EN, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY 18: 8, 865-872, 2005**
- 43) Bodiwala K, Miller AR, Nanda NC, et al.: **ECHOCARDIOGRAPHY-A JOURNAL OF CARDIOVASCULAR ULTRASOUND AND ALLIED TECHNIQUES 22: 7, 611-620, 2005**
- 44) Martinsen BJ: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 4, 1217-1237, 2005**
- 45) Petersen SE, Selvanayagam JB, Wiesmann F, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY 46: 1, 101-105, 2005**
- 46) Bartman T, Hove J: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 2, 373-381, 2005**
- 47) Rothenberg F, Watanabe M, Eloff B, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 2, 456-465, 2005**
- 48) Handley-Goldstone HM, Grow MW, Stegeman JJ: **TOXICOLOGICAL SCIENCES 85: 1, 683-693, 2005**
- 49) Sengupta PP, Mohan JC, Mehta V, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF CARDIOLOGY 95: 7, 922-923, 2005**
- 50) Torrent-Guasp F, Kocica MJ, Corno AF, et al.: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 27: 2, 191-201, 2005**
- 51) Tobita K, Garrison JB, Liu LJ, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 283A: 1, 193-201, 2005**
- 52) Eberhard D, Jockusch H: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 278: 2, 336-346 2005**
- 53) Hughes SE, McKenna WJ: **HEART 91: 2, 257-264, 2005**
- 54) Rothenberg F, Nikolski VP, Watanabe M, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 288: 1, H344-H351, 2005**
- 55) Toyofuku T, Zhang H, Kumanogoh A, et al.: **NATURE CELL BIOLOGY 6: 12, 1204-1211, 2004**
- 56) Wang B, Weidenfeld J, Lu MM, et al.: **DEVELOPMENT 131: 18, 4477-4487, 2004**
- 57) Grossmann KS, Grund C, Huelsken J, et al.: **JOURNAL OF CELL BIOLOGY 167: 1, 149-160, 2004**
- 58) Chuck ET, Meyers K, France D, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 990-1000, 2004**
- 59) Stollberger C, Winkler-Dworak M, Blazek G, et al.: **INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY 97: 1, 89-92, 2004**
- 60) Li SR, Zhou DY, Lu MM, et al.: **SCIENCE 305: 5690, 1619-1622, 2004**
- 61) Delhaas T, Decaluwe W, Rubbens M, et al.: **CARDIAC ENGINEERING: FROM GENES AND CELLS TO STRUCTURE AND FUNCTION** Book Series: **ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES 1015, 190-201, 2004**
- 62) Sasse-Klaassen S, Probst S, Gerull B, et al.: **CIRCULATION 109: 22, 2720-2723, 2004**
- 63) Parlakian A, Tuil D, Hamard G, et al.: **MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY 24: 12, 5281-5289, 2004**
- 64) Jost CHA, Connolly HM, Warnes CA, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY 17: 6, 677-680, 2004**
- 65) Lincoln J, Alfieri CM, Yutzey KE: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 230: 2, 239-250, 2004**
- 66) Tamborini G, Pepi M, Celeste F, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY 17: 4, 367-374, 2004**
- 67) Sharma PR, Anderson RH, Copp AJ, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 277A: 2, 355-369, 2004**
- 68) Sugishita Y, Watanabe M, Fisher SA: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 267: 2, 294-308, 2004**
- 69) Toyofuku T, Zhang H, Kumanogoh A, et al.: **GENES & DEVELOPMENT 18: 4, 435-447, 70) 2004**

- 71) Stollberger C, Finsterer J: **JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY 17: 1, 91-100, 2004**
- 72) Meilhac SM, Esner M, Kerszberg M, et al.: **JOURNAL OF CELL BIOLOGY 164: 1, 97-109, 2004**
- 73) Meilhac SM, Kelly RG, Rocancourt D, et al.: **DEVELOPMENT 130: 16, 3877-3889, 2003**
- 74) Pennisi DJ, Ballard VLT, Mikawa T: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 228: 2, 161-172, 2003**
- 75) Cheung KK, Ryten M, Burnstock G: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 228: 2, 254-266, 2003**
- 76) Moorman AFM, Christoffels VM: **PHYSIOLOGICAL REVIEWS 83: 4, 1223-1267, 2003**
- 77) Zhao F, Lufkin T, Gelb BD: **GENE EXPRESSION PATTERNS 3: 2, 213-217, 2003**
- 78) Xie WJ, Thompson RP, Perucchio R: **PATTERN RECOGNITION 36: 7, 1529-1544, 2003**
- 79) Karatza AA, Holder SE, Gardiner HM: **ULTRASOUND IN OBSTETRICS & GYNECOLOGY 21: 1, 75-80, 2003**
- 80) Garratt AN, Ozcelik C, Birchmeier C: **TRENDS IN CARDIOVASCULAR MEDICINE 13: 2, 80-86, 2003**
- 81) Brutsaert DL: **PHYSIOLOGICAL REVIEWS 83: 1, 59-115, 2003**
- 82) Cayli S, Ustunel I, Celik-Ozenci C, et al.: **ACTA HISTOCHEMICA 104: 3, 271-277, 2002**
- 83) King T, Bland Y, Webb S, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 225: 2, 212-215, 2002**
- 84) Schroder EA, Tobita K, Tinney JP, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 91: 4, 353-359, 2002**
- 85) Ling P, Taber LA, Humphrey JD: **ANNALS OF BIOMEDICAL ENGINEERING 30: 5, 636-645, 2002**
- 86) Tobita K, Schroder EA, Tinney JP, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 282: 6, H2386-H2396, 2002**
- 87) Chabert S, Taber LA: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 282: 4, H1248-H1254, 2002**
- 88) Liu ZP, Olson EN: **PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 99: 4, 2043-2048, 2002**
- 89) Varvava AM: **HEART 86: 6, 599-600, 2001**
- 90) Villar AJ, Carlson EJ, Gillespie AM, et al.: **GENESIS 30: 4, 274-279, 2001**
- 91) Taber LA: **ANNUAL REVIEW OF BIOMEDICAL ENGINEERING 3, 1-25, 2001**
- 92) Hu N, Yost HJ, Clark EB: **ANATOMICAL RECORD 264: 1, 1-12, 2001**
- 93) Deruiter MC, Rensen SSM, Coolen GPGM, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 221: 4, 460-463, 2001**
- 94) Taber LA, Perucchio R: **JOURNAL OF ELASTICITY 61: 1-3, 165-197, 2000**
- 95) Taber LA, Zahalak GI: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 220: 3, 226-237, 2001**
- 96) Hatcher CJ, Kim MS, Mah CS, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 230: 2, 177-188, 2001**  
Gittenberger-de Groot AC, Peeters MPFMV, Bergwerff M, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 87: 11, 969-971, 2000**

Wessels A, Sedmera D. 2003. Developmental anatomy of the heart: a tale of mice and man. *Physiol Genomics* 15:165-176. IF 3,493, citováno 24x

- 1) Jakab K, Damon B, Marga F, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 237: 9, 2438-2449, 2008**
- 2) Rojas A, Kong SW, Agarwal P, et al.: **MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY 28: 17, 5420-5431, 2008**
- 3) Papadimitriou D, Xanthos T, Dontas I, et al.: **LABORATORY ANIMALS 42: 3, 265-276, 2008**
- 4) Yu Q, Leatherbury L, Tian X, et al.: **ULTRASOUND IN MEDICINE AND BIOLOGY 34: 5, 741-752, 2008**
- 5) Martin-Puig S, Wang Z, Chien KR: **CELL STEM CELL 2: 4, 320-331, 2008**
- 6) Lie-Venema H, van den Akker NMS, Bax NAM, et al.: **THESCIENTIFICWORLDJOURNAL 7, 1777-1798, 2007**
- 7) Jakab K, Norotte C, Damon B, et al.: **TISSUE ENGINEERING PART A 14: 3, 413-421, 2008**

- 8) Flenner E, Marga F, Neagu A, et al.: **MULTISCALE MODELING OF DEVELOPMENTAL SYSTEMS** Book Series: **CURRENT TOPICS IN DEVELOPMENTAL BIOLOGY 81, 461-483, 2008**
- 9) Wirrig EE, Snarr BS, Chintalapudi MR, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 310: 2, 291-303, 2007**
- 10) Butcher JT, Markwald RR: **PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY B-BIOLOGICAL SCIENCES 362: 1484, 1489-1503, 2007**
- 11) Risebro CA, Riley PR: **THE SCIENTIFIC WORLD JOURNAL 6, 1862-1880, 2006**
- 12) Sander TL, Klinkner DB, Tornita-Mitchell A, et al.: **PEDIATRIC CLINICS OF NORTH AMERICA 53: 5, 989-+, 2006**
- 13) Costandi PN, Frank LR, McCulloch AD, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 6, H2971-H2979, 2006**
- 14) Kruger M, Kohl T, Linke WA: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 2, H496-H506, 2006**
- 15) Corno AF, Kocica MJ, Torrent-Guasp F: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S61-S68 Supplement: Suppl. 1, 2006**
- 16) Lange AW, Yutzey KE: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 292: 2, 407-417, 2006**
- 17) Matalon R, Surendran S, McDonald JD, et al.: **INTERNATIONAL JOURNAL OF IMMUNOPATHOLOGY AND PHARMACOLOGY 18: 3, 557-565, 2005**
- 18) Norris RA, Kern CB, Wessels A, et al.: **ANATOMY AND EMBRYOLOGY 210: 1, 13-23, 2005**
- 19) Person AD, Klewer SE, Runyan RB: **INTERNATIONAL REVIEW OF CYTOLOGY - A SURVEY OF CELL BIOLOGY, VOL 243** Book Series: **INTERNATIONAL REVIEW OF CYTOLOGY-A SURVEY OF CELL BIOLOGY 243, 287-+, 2005**
- 20) Eisenberg LM, Markwald RR: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 274: 2, 225-232, 2004**

Sedmera D, Cook AC, Shirali G, McQuinn TC. 2005. Current issues and perspectives in hypoplasia of the left heart. *Cardiol Young* 15:56-72. IF 0,912, citováno 9x

- 1) Clur SA, Mathijssen IB, Pajkrt E, et al.: **PRENATAL DIAGNOSIS 28: 4, 347-354, 2008**
- 2) Gambetta K, Al-Ahdab MK, Ilbawi MN, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 294: 5, H2268-H2275, 2008**
- 3) Connor JA, Thiagarajan R: **ORPHANET JOURNAL OF RARE DISEASES 2** Article Number: **23, 2007**
- 4) Menke LA, Poll-The BT, Clur SA, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS PART A 146A: 6, 740-744, 2008**
- 5) Robert MLP, Lopez T, Crolla J, et al.: **CLINICAL DYSMORPHOLOGY 16: 4, 241-246, 2007**
- 6) Eghtesady P, Michelfelder E, Altaye M, et al.: **ANNALS OF THORACIC SURGERY 83: 2, 631-639, 2007**
- 7) Allan LD: **CARDIOLOGY IN THE YOUNG 16: 1, 11-17, 2006**

Sedmera D. 2005. Form follows function: developmental and physiological view on ventricular myocardial architecture. *Eur J Cardiothorac Surg* 28:526-528. IF 2,011, citováno 4x

- 1) Sengupta PP, Krishnamoorthy VK, Korinek J, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY 20: 5, 539-551, 2007**
- 2) Sengupta PP, Korinek J, Belohlavek M, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY 48: 10, 1988-2001, 2006**
- 3) Kocica MJ, Corno AF, Carreras-Costa F, et al.: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S21-S40 Supplement: Suppl. 1, 2006**
- 4) Manner J: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S69-S74 Supplement: Suppl. 1, 2006**

Sedmera D, McQuinn T. 2008. Embryogenesis of the heart muscle. *Heart Fail Clin* 4:235-245.



- Gourdie RG, Harris BS, Bond J, Justus C, Hewett KW, O'Brien TX, Thompson RP, Sedmera D. 2003. Development of the cardiac pacemaking and conduction system. *Birth Defects Res C Embryo Today* 69:46-57.
- Sedmera D. 2007. Development of cardiac conduction system in mammals. *Journal of Applied Biomedicine* 5:115-123.
- Sedmera D, Kurkova D. 2007. [Functional and developmental view on Purkinje fibers system]. *Cas Lek Cesk* 146:673-676.

## Metodické přístupy

### Rastrovací elektronová mikroskopie

Základem pro kvalitní morfologická data je precizní odběr a zpracování materiálu. To znamená v případě embryonálních srdcí především fixaci pomocí perfúze, jež má za cíl odstranit z dutin srdečních krev a zastavit srdce v maximální diastole. Kromě fixace v jasně definované fázi srdečního cyklu je jasné, že struktura bude lépe patrná, pokud je studována rozložena do větší plochy. Po takto provedené fixaci následuje postfixace oxidem osmičelým, mikrodisekce speciálně upravenými nůžkami, a dále standardní protokol pro rastrovací elektronovou mikroskopii.

### Optické mapování

Přesný popis systému pro optické mapování jsme podali v několika publikacích (Reckova et al., 2003; Sedmera et al., 2003b; Hall et al., 2004), proto zde ve stručnosti nastíníme pouze princip. Srdce je opatrně izolováno ze zárodku na stanoveném stádiu pod preparačním mikroskopem, a vloženo do okysličeného pufru s barvivem citivým na změny membránového napětí (di-4-ANEPPS) na dobu pěti minut. Po krátkém opláchnutí je vloženo do vyhřívané tkáňové komůrky s okysličeným pufrem, a přišpendleno na dno pokryté silikonem. K omezení pohybu je přidán cytochalasin D, nověji blebistatin, v koncentraci 10-80 mikromolů na litr (podle druhu a stadia). Srdce je pozorováno pod fluorescenčním mikroskopem, a po stabilizaci je proveden záznam po dobu 4-10 sekund pomocí vysoce citlivé vysokorychlostní kamery. Při osvětlení zeleným světlem odpovídá pokles intenzity emitované červené fluorescence akčnímu potenciálu (Witkowski et al., 1997). Data získaná s frekvencí 500-2000 obrázků za sekundu jsou digitálně filtrována, a generují se profily intenzity jednotlivých pixelů v závislosti na čase. Z těch se pak numerickou cestou vypočítá první derivace, jejíž vrchol určuje maximální rychlost změny napětí, jež je obecně uznávaným kritériem pro stanovení okamžiku aktivace jednotlivých pixelů. Tím se každý pixel (ze souboru 80x80 či 100x100, odpovídajícímu velikosti čipu kamery) stává neinvazivní, miniaturní virtuální elektrodou. Z takto upravených dat lze pak sestavit aktivační izochronální mapy, a vytvořit animace, ukazující šíření akčního potenciálu v prostoru a čase.

### Znázornění pomalu se dělicích tkání pomocí dvojího značení radioaktivním thymidinem a bromodeoxyuridinem

První metoda použitá pro znázornění tkání s velmi nízkou až nulovou proliferační aktivitou spočívá v metodě ředění značky, která byla původně vyvinuta v neurovědě pro zjišťování stáří neuronů. Podává se při ní, na velmi časném stádiu vývoje (2.-3. den inkubace u kuřete, 10.-13. den u myši), malé množství thymidinu značeného tritiem [<sup>3</sup>H]. Ten je inkorporován do všech buněk, které po dobu jeho dostupnosti (2-24 hodin, u kuřete se dosahuje zostření značení podáním stonásobného množství neznačeného thymidinu na konci značkovací periody) procházejí S-fází buněčného cyklu. Buňky tkání, jež po tomto období pokračují v dělení, značku opakovanými mitózami rozředí pod detekovatelnou úroveň. Oproti tomu v tkáních, kde proliferace ustává (například v důsledku terminální diferenciaci) značka přetrvává a je po odběru a histologickém zpracování detekována autoradiograficky.

Opačným postupem, který znázorňuje v podstatě tytéž tkáň negativně, je značení 5-bromodeoxyuridinem po dobu 24 hodin před odběrem. Tento analog thymidinu se rovněž inkorporuje do jader buněk procházejících S-fází, a je detekován imunohistochemicky. V embryonálních tkáních na námi zkoumaných stádiích je délka buněčného cyklu zhruba 16 hodin, takže během této doby dojde k jeho inkorporaci do prakticky všech buněk, s výjimkou těch, které jsou již terminálně diferenciovány.

### Histologie

Embrya byla na zvolených stádiích fixována po dobu nejméně 24 hodin v Dentsově roztoku (80% methanol, 20% dimethyl sulfoxid). Následovala izolace srdcí u pokročilejších stádií, odvodnění vzestupnou ethanolovou řadou, a zalití do parafinu. Sériové řezy o tloušťce 8 mikrometrů byly krájeny na rotačním mikrotomu, a každý 10. řez byl obarven pro orientaci hematoxylinem-eosinem. Na jejich základě byly pak vybrány sousední řezy obsahující oblast relevantní pro naše studie a barveny specifickými protilátkami či autoradiografií.

### Imunohistochemie a konfokální mikroskopie

Po odstranění parafinu z řezů a jejich důkladném propláchnutí destilovanou vodou byly jednotlivé řezy na skle ohraničeny PAP perem a blokovány Tris pufrem s 0.1% Tritonem-X a 4% hovězím albuminem po dobu 30

minut. Následovala inkubace s primární protilátkou ve vlhké komůrce za pokojové teploty přes noc, trojí opláchnutí pufrem, čtyřhodinová inkubace s příslušnou fluorescenčně značenou sekundární protilátkou, opláchnutí a dobarvení jader. Poté následovala buď autoradiografie, nebo odvodnění, projasnění a zamontování do permanentního média DEPEX (Electron Microscopy Sciences).

Fluorescenčně obarvené řezy byly prohlíženy na konfokálním mikroskopu firmy Leica (TCS SP2 AOBS, případně SPE). Autoradiografická zrnka byla zobrazena buď metodou reflexe paprsku, a nebo transmisí (pro velká zvětšení). Získané obrázky byly dále upravovány v programu Adobe Photoshop (nastavení úrovně jasu a kontrastu, zostřovací filtr, přesuny barevných kanálů, popisky a montáže).

#### Experimentální zásahy do hemodynamiky kuřecího zárodku

Pro experimentální zvýšení tlakové zátěže komory byla použita metoda konstrikce konotrunkku vyvinutá Clarkem a kolegy (Clark et al., 1984; Clark et al., 1989). Na stadiu 21 dle Hamburgera a Hamiltona (Hamburger and Hamilton, 1951) byla kolem konotrunkku protažena a utažena nylonová nit tloušťky 10-0. Pro optimální přežití bylo utažení provedeno pouze těsně ke stěně, takže vlastní konstrikce nastala až s dalším růstem srdce po zhruba 6 hodinách. Odběry pro optické mapování a histologické zpracování byly prováděny následně v 24 hodinových intervalech.

Snížení objemové (a následně i tlakové) zátěže levé komory bylo dosaženo částečnou ligaturou základu ouška levé předsíně nylonovou smyčkou na stadiu 24 (Sedmera et al., 1999). Tato technika je modifikací zaštípnutí pomocí stříbrné svorky, jež bylo původně vyvinuto Rychterem a kolegy (Rychter et al., 1979; Rychter and Rychterova, 1981). Odběry byly prováděny ve dvoudenních intervalech, a k analýze byly použity pouze zárodky s výrazným fenotypem levostranné hypoplázie.

Na tomto modelu byla na 8. dnu inkubace prováděna úprava velikosti pravé předsíně metodou stříbrné svorky. Echokardiografie byla prováděna před výkonem a hodinu po výkonu po normalizaci teploty a oběhu.

#### Hypoxická inkubace

Zárodky japonské křepelky byla inkubovány od ukončeného 2. dne ve snížené (16%) koncentraci kyslíku (Nanka et al., 2006). Odběr a zpracování se nelišil od výše popsaných postupů.

#### Farmakologická inhibice endotelinových receptorů

Duální antagonist endotelinových receptorů A a B bosentan byl aplikován v dávce 250 µg na embryo ve dvoudenních intervalech mezi 2. a 9. dnem inkubace. Látka byla laskavě poskytnuta Dr. Marie Clozel (Actelion Pharmaceuticals).

#### Kvantitativní RT-PCR

Pro stanovení množství mRNA pro geny zúčastněné v diferenciaci převodního systému byla použita metoda reverzní transkripce. Celková mRNA byla extrahována standartní technikou z několika srdcí či izolovaných pravých a levých komor, které byly odebrány do TRIzol a uchovávány v -80 °C. RNA byla konvertována do cDNA metodou reverzní transkripce. Následovala amplifikace pomocí polymerázové řetězcové reakce s primery specifickými pro konexin 40, endotelin konvertující enzym-1, a GAPDH. Produkty reakce byly separovány na 1% agarózovém gelu a obarveny ethidium bromidem. Intenzita proužků byla měřena na snímcích pořízených digitálním zobrazovacím systémem (Hall et al., 2004).

#### In situ hybridizace

Expres mRNA pro geny Wnt11, Wnt7a, konexin 40 a ECE1 byla zkoumána metodou whole mount in situ hybridizace. Po fixáži v 4% paraformaldehydu přes noc v chladničce, skladování ve 100% methanolu, a převedení do pufru následovala permeabilizace proteinázou K a inkubace se sondami značenými digoxigeninem. Detekce byla provedena protilátkou proti digoxigeninu konjugovanou s alkalickou fosfatázou a následnou inkubací s nitroblue tetrazolovou modří (Bond et al., 2003). Pro ozřejmení barvení v hlubších vrstvách byla srdce mikrodisekována ručně, či krájena buď vibratomem nebo standartním mikrotomem po zalití do parafínu (Hall et al., 2004).

Další používané techniky

Vzhledem ke spolupráci s jinými laboratoři bylo v předložených pracích použito množství experimentálních technik, které zde nejsou detailně popsány. Popisoval jsem zde pouze metody, zavedené a používané v naší laboratoři. Proto případné zájemce odkazuji na metodické části těchto prací.

**Téze disertace**

- A. Trabekularizace v komorách není uspořádána náhodně, ale odráží kompromis mezi její funkcí kontraktilní a převodní.
- B. Remodelace embryonálního komorového myokardu za experimentálně změněných hemodynamických podmínek je založena na změnách v buněné proliferaci.
- C. Vývojové změny v aktivační sekvenci komor korelují s významnými morfogenetickými událostmi v srdci, a jsou podobné u ptáků i savců.
- D. Vývoj komorového převodního systému je ovlivněn mechanickými faktory, a jednou z možných indukujících signalizačních kaskád je endotelinový systém.

**Výsledky**

Výsledky jsou seřazeny podle pěti základních témat nastíněných v Obsahu: 1) Vývoj myoarchitektoniky komor u ptačího zárodku, 2) Vliv pracovní zátěže na přestavbu komorového myokardu za vývoje, 3) Architektura komor u nižších obratlovců, 4) Vývoj převodního systému u ptáků, 5) Mechanismy řídicí vznik převodního systému u savců. V následující části rozebereme podrobněji tyto body spolu s odkazy na původní práce, jež jsou vždy přiloženy. Předkládán je reprezentativní výběr původních prací na dané téma, kompletní seznam publikací autora je uveden v příloze.

### 1. Vývoj myoarchitektoniky komor u ptačího zárodku

V našem prvním článku na toto téma (Sedmera et al., 1997) jsme popsali vývoj architektury komorového myokardu u kuřecího zárodku od stádia trubice (2,5 den vývoje) až do konce inkubačního období (21. den). Hlavním přínosem oproti předchozím studiím bylo rozšíření o časná a pozdější stádia (žádná z prací se nezabývala zárodky stašími než 7 dní), studium komory ve stavu maximální diastoly díky fixaci perfúzi a kvantifikace růstu tloušťky kompaktní vrstvy komorového myokardu v levé a pravé komoře. Další kvantitativní studie (Sedmera et al., 1998) se zabývala v detailu poměrem mezi kompaktním myokardem a trabekulami mezi 3,5 a 6. dnem inkubace a změnami architektury v důsledku snížení pracovní zátěže po podání kontinuální infúze verapamilu. V souladu s očekáváním jsme našli sníženou tloušťku kompaktního myokardu a vyšší procento trabekul, což jsme interpretovali jako opoždění morfogeneze při snížených pracovních nárocích. V novějších studiích o dekádu později jsme pak klasická data z rastrovací elektronové mikroskopie porovnávali s moderními technikami, nedávno adaptovanými na měřítka embryonálního srdce (mikrometry). Ve spolupráci s oddělením radiologie se jednalo o metodu mikroCT (Butcher et al., 2007), a společně s dětskými kardiology pak o funkci studii s využitím echokardiografie na mikroskopické úrovni (McQuinn et al., 2007). V této tematice pokračujeme i nadále, a naše zatím poslední experimentální studie (Nanka et al., 2008) ukázala opožděnou morfogenezi stěny komor a poruchu vzniku koronárních kmenů v případě inkubace zárodka za hypoxických podmínek.

Práce k problematice:

Sedmera D, Pexieder T, Hu N, Clark EB. 1997. Developmental changes in the myocardial architecture of the chick. *Anat Rec* 248:421-432. IF 1,801, citováno 43x

- 1) Del Monte G, Grego-Bessa J, Gonzalez-Rajal A, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 236: 9, 2594-2614, 2007**
- 2) Butcher JT, Markwald RR: **PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY B-BIOLOGICAL SCIENCES 362: 1484, 1489-1503, 2007**
- 3) Grego-Bessa J, Luna-Zurita L, del Monte G, et al.: **DEVELOPMENTAL CELL 12: 3, 415-429, 2007**
- 4) Title: Kocica MJ, Corno AF, Carreras-Costa F, et al.: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S21-S40 Supplement: Suppl. 1, 2006**
- 5) Corno AF, Kocica MJ, Torrent-Guasp F: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S61-S68 Supplement: Suppl. 1, 2006**
- 6) Manner J: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S69-S74 Supplement: Suppl. 1, 2006**
- 7) Freedom RM, Yoo SJ, Perrin D, et al.: **CARDIOLOGY IN THE YOUNG 15: 4, 345-364, 2005**
- 8) Martinsen BJ: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 4, 1217-1237, 2005**
- 9) Bartman T, Hove J: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 2, 373-381, 2005**
- 10) Torrent-Guasp F, Kocica MJ, Corno AF, et al.: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 27: 2, 191-201, 2005**
- 11) Tobita K, Garrison JB, Liu LJ, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 283A: 1, 193-201, 2005**
- 12) Chuck ET, Meyers K, France D, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 990-1000, 2004**
- 13) Sussman MA, McCulloch A, Borg TK: **CIRCULATION RESEARCH 91: 10, 888-898, 2002**
- 14) Schroder EA, Tobita K, Tinney JP, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 91: 4, 353-359, 2002**
- 15) Ling P, Taber LA, Humphrey JD: **ANNALS OF BIOMEDICAL ENGINEERING 30: 5, 636-645, 2002**
- 16) Tobita K, Schroder EA, Tinney JP, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 282: 6, H2386-H2396, 2002**
- 17) Phoon CKL: **CURRENT OPINION IN PEDIATRICS 13: 5, 456-464, 2001**
- 18) Taber LA: **ANNUAL REVIEW OF BIOMEDICAL ENGINEERING 3, 1-25, 2001**
- 19) Hu N, Yost HJ, Clark EB: **ANATOMICAL RECORD 264: 1, 1-12, 2001**

- 20) Taber LA, Perucchio R: **JOURNAL OF ELASTICITY 61: 1-3, 165-197, 2000**
- 21) Taber LA, Zahalak GI: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 220: 3, 226-237, 2001**
- 22) Miller CE, Donlon KJ, Toia L, et al.: **IN VITRO CELLULAR & DEVELOPMENTAL BIOLOGY-ANIMAL 36: 10, 633-639, 2000**
- 23) Tobita K, Keller BB: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 279: 3, H959-H969, 2000**
- 24) Tobita K, Keller BB: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 279: 1, H216-H224, 2000**
- 25) Tobita K, Keller BB: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 276: 6, H2102-H2108 1999**

Sedmera D, Pexieder T, Hu N, Clark EB. 1998. A quantitative study of the ventricular myoarchitecture in the stage 21- 29 chick embryo following decreased loading. *Eur J Morphol* 36:105-119. IF 0,568, citováno 25x

- 1) Horiba M, Muto T, Ueda N, et al.: **LIFE SCIENCES 82: 11-12, 554-560, 2008**
- 2) Kim KH, Antkiewicz DS, Yan L, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 308: 2, 494-506**  
Published: **AUG 15 2007**
- 3) Kocica MJ, Corno AF, Carreras-Costa F, et al.: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S21-S40** Supplement: **Suppl. 1, 2006**
- 4) Freedom RM, Yoo SJ, Perrin D, et al.: **CARDIOLOGY IN THE YOUNG 15: 4, 345-364, 2005**
- 5) Tobita K, Garrison JB, Liu LJ, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 283A: 1, 193-201** Published: **MAR 2005**
- 6) Incardona JP, Collier TK, Scholz NL: **TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY 196: 2, 191-205, 2004**
- 7) Huang CQ, Sheikh F, Hollander M, et al.: **DEVELOPMENT 130: 24, 6111-6119, 2003**
- 8) Schroder EA, Tobita K, Tinney JP, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 91: 4, 353-359, 2002**
- 9) Rottbauer W, Baker K, Wo ZG, et al.: **DEVELOPMENTAL CELL 1: 2, 265-275, 2001**
- 10) Taber LA: **ANNUAL REVIEW OF BIOMEDICAL ENGINEERING 3, 1-25, 2001**
- 11) Taber LA, Zahalak GI: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 220: 3, 226-237, 2001**
- 12) Miller CE, Donlon KJ, Toia L, et al.: **IN VITRO CELLULAR & DEVELOPMENTAL BIOLOGY-ANIMAL 36: 10, 633-639, 2000**
- 13) Miller CE, Wong CL: **JOURNAL OF BIOMECHANICS 33: 5, 615-622, 2000**
- 14) Abdelwahid E, Pelliniemi LJ, Niinikoski H, et al.: **ANATOMICAL RECORD 256: 2, 208-217, 1999**

Butcher JT, Sedmera D, Guldberg RE, Markwald RR. 2007. Quantitative volumetric analysis of cardiac morphogenesis assessed through micro-computed tomography. *Dev Dyn* 236:802-809. IF 3,084, citováno 4x

- 1) Dudic A, Giannopoulou C, Martinez M, et al.: **EUROPEAN JOURNAL OF ORAL SCIENCES 116: 5, 467-472, 2008**
- 2) Guldberg RE, Duvall CL, Peister A, et al.: **BIOMATERIALS 29: 28, 3757-3761, 2008**
- 3) Filas BA, Efimov IR, Taber LA: **ANATOMICAL RECORD-ADVANCES IN INTEGRATIVE ANATOMY AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 290: 9, 1057-1068, 2007**

McQuinn TC, Bratoeva M, Dealmeida A, Remond M, Thompson RP, Sedmera D. 2007. High-frequency ultrasonographic imaging of avian cardiovascular development. *Dev Dyn* 236:3503-3513. IF 3,084, citováno 3x

- 1) Poelmann RE, Groot ACGD, Hierck BP: **MEDICAL & BIOLOGICAL ENGINEERING & COMPUTING 46: 5, 479-484, 2008**
- 2) Hierck BP, Van der Heiden K, Poelma C, et al.: **THESCIENTIFICWORLDJOURNAL 8, 212-222, 2008**
- 3) Manner J, Thrane L, Norozi K, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 237: 4, 953-961, 2008**



Nanka O, Krizova P, Fikrle M, Tuma M, Blaha M, Grim M, Sedmera D. 2008. Abnormal myocardial and coronary vasculature development in experimental hypoxia. *Anat Rec (Hoboken)* 291:1187-1199. IF 1,801

## 2. Vliv pracovní zátěže na přestavbu komorového myokardu za vývoje

Jak již bylo postulováno, struktura srdce a potažmo myoarchitektonika komor je v úzkém vztahu k pracovním nárokům na srdce kladených. Bylo zjištěno, že toto platí i pro embryonální srdce, ale experimentálních studií bylo s výjimkou unikátních studií Rychtera a kol. (Rychter and Rychterova, 1981) z metodologických důvodů málo a omezovaly se u savců většinou na pozdější fetální období. Na modelu kuřecího zárodku jsme byli schopni předvést na několika modelech manipulace vedoucí jak ke zvýšení, tak ke snížení pracovního zatížení. Prvním takovým modelem, zmíněným již v předchozí části, bylo snížení zátěže přímo i nepřímo podáním kontinuální infúze verapamilu (Sedmera et al., 1998), které vedlo k opoždění procesů normálně sdružených s morfológickou diferenciací komorového myokardu. V případě lokálního snížení zátěže komory pomocí ektopické elektrické stimulace v oblasti hrotu došlo ke ztenčení takto časné aktivovaného myokardu (Sedmera et al., 1999a) spolu se snížením proliferace a exprese růstového faktoru FGF-2. Na této mechanistické bázi byla založena i experimentální hypoplázie levé komory (Sedmera et al., 2002), kterýžto model je založen na modifikaci metody Rychtera a kol. ze 60. let 20. století. Morfológickou stránku tohoto modelu jsme popsali spolu s přestavbou komory za zvýšené tlakové zátěže o 3 roky dříve (Sedmera et al., 1999b) a tento článek nám poprvé přinesl obrázek na titulní straně. Zvýšenou tlakovou zátěží jsme se zabývali i na savčím modelu (dvoudenní potkani s konstrikcí břišní aorty), kdy jsme ukázali, že plasticita založená na proliferaci přetrvává i do časného postnatálního období. Prozatím poslední studie na toto téma byla zaměřena na ověření hypotézy s potenciální aplikací v praxi. Na již dříve popsaném modelu hypoplázie levé komory u kuřecího zárodku jsme ukázali, že mnohé z popisovaných změn jsou reverzibilní při úpravě hemodynamických podmínek dalším operačním zákrokem, tentokrát redukcí pravé předsíně (deAlmeida et al., 2007).

Práce k problematice:

Sedmera D, Grobety M, Reymond C, Baehler P, Kucera P, Kappenberger L. 1999a. Pacing-induced ventricular remodeling in the chick embryonic heart. *Pediatr Res* 45:845-852. IF 2,839, citováno 6x

- 1) Rosa A, Maury JP, Terrand J, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 284: 6, H2384-H2392, 2003**

Sedmera D, Hu N, Weiss KM, Keller BB, Denslow S, Thompson RP. 2002. Cellular changes in experimental left heart hypoplasia. *Anat Rec* 267:137-145. IF 1,801, citováno 27x

- 1) Grimes AC, Erwin KN, Stadt HA, et al.: **TOXICOLOGICAL SCIENCES 106: 1, 193-205, 2008**
- 2) Andelfinger G: **CLINICAL GENETICS 73: 6, 516-527, 2008**  
Leeuwenburgh BPJ, Helbing WA, Wenink ACG, et al.: **JOURNAL OF ANATOMY 212: 3, 286-294, 2008**
- 3) Mizrahi-Arnaud A, Tworetzky W, Bulich LA, et al.: **PEDIATRIC RESEARCH 62: 3, 325-330, 2007**
- 4) Grossfeld P: **CIRCULATION RESEARCH 100: 9, 1246-1248, 2007**
- 5) Risebro CA, Riley PR: **THE SCIENTIFIC WORLD JOURNAL 6, 1862-1880, 2006**
- 6) Visconti RP, Markwald RR: **INTERACTIVE AND INTEGRATIVE CARDIOLOGY** Book Series: **ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES 1080, 19-33, 2006**
- 7) Tobita K, Liu LJ, Janczewski AM, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 4, H1829-H1837, 2006**  
Makikallio K, McElhinney DB, Levine JC, et al.: **CIRCULATION 113: 11, 1401-1405, 2006**
- 8) Tobita K, Garrison JB, Liu LJ, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 283A: 1, 193-201, 2005**
- 9) Tworetzky W, Marshall AC: **PEDIATRIC CLINICS OF NORTH AMERICA 51: 6, 1503-+, 2004**
- 10) Tworetzky W, Wilkins-Haug L, Jennings RW, et al.: **CIRCULATION 110: 15, 2125-2131, 2004**
- 11) Ursem NTC, Stekelenburg-de Vos S, Wladimiroff JW, et al.: **JOURNAL OF EXPERIMENTAL BIOLOGY 207: 9, 1487-1490, 2004**
- 12) Berdugo E, Coleman H, Lee DH, et al.: **DEVELOPMENT 130: 24, 6121-6129, 2003**
- 13) Tworetzky W, Marshall AC: **CLINICS IN PERINATOLOGY 30: 3, 541-+, 2003**

- 14) Martinovic J, Encha-Razavi F, Vekemans M, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS PART A 122A: 2, 183-185, 2003**
- 15) Sugi Y, Ito N, Szebenyi G, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 258: 2, 252-263, 2003**
- 16) Schroder EA, Tobita K, Tinney JP, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 91: 4, 353-359, 2002**

Sedmera D, Pexieder T, Rychterova V, Hu N, Clark EB. 1999b. Remodeling of chick embryonic ventricular myoarchitecture under experimentally changed loading conditions. *Anat Rec* 254:238-252. IF 1,801, citováno 56x

- 1) Rugonyi S, Shaut C, Liu AP, et al.: **PHYSICS IN MEDICINE AND BIOLOGY 53: 18, 5077-5091, 2008**
- 2) Dellefave L, McNally EM: **CIRCULATION 117: 22, 2847-2849, 2008**
- 3) Groenendijk BCW, Van der Heiden K, Hierck BP, et al.: **PHYSIOLOGY 22: 6, 380-389, 2007**
- 4) Keller BB, Liu LJ, Tinney JP, et al.: **REPRODUCTIVE BIOMECHANICS** Book Series: **ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES 1101, 377-388, 2007**
- 5) Butcher JT, Markwald RR: **PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY B-BIOLOGICAL SCIENCES 362: 1484, 1489-1503, 2007**
- 6) Liu AP, Rugonyi S, Pentecost JO, et al.: **COMPUTERS & STRUCTURES 85: 11-14** Special Issue: **Sp. Iss. SI, 727-738, 2007**
- 7) Kurio GH, Gulati R, Bichell DP, et al.: **PEDIATRIC CARDIOLOGY 27: 5, 628-632, 2006**
- 8) Tobita K, Liu LJ, Janczewski AM, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 4, H1829-H1837, 2006**
- 9) Lucitti JL, Visconti R, Novak J, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 4, H1919-H1926, 2006**
- 10) Hove JR: **PEDIATRIC RESEARCH 60: 1, 6-13, 2006**
- 11) Drake VJ, Koprowski SL, Lough J, et al.: **ENVIRONMENTAL HEALTH PERSPECTIVES 114: 6, 842-847, 2006**
- 12) Moralez I, Phelps A, Riley B, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 235: 6, 1648-1658, 2006**
- 13) Freedom RM, Yoo SJ, Perrin D, et al.: **CARDIOLOGY IN THE YOUNG 15: 4, 345-364, 2005**
- 14) Sharma SK, Lucitti JL, Nordman C, et al.: **PEDIATRIC RESEARCH 59: 1, 116-120, 2006**
- 15) Keller BB: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 289: 3, H975-H976, 2005**
- 16) Lucitti JL, Tobita K, Keller BB: **JOURNAL OF EXPERIMENTAL BIOLOGY 208: 10, 1877-1885, 2005**
- 17) Bartman T, Hove J: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 2, 373-381, 2005**
- 18) Burggren W, Warburton S: **ANNUAL REVIEW OF PHYSIOLOGY 67, 203-223, 2005**
- 19) Tobita K, Garrison JB, Liu LJ, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 283A: 1, 193-201, 2005**
- 20) Somi S, Buffing AAM, Moorman AFM, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 279A: 1, 636-651, 2004**
- 21) Ursem NTC, Stekelenburg-de Vos S, Wladimiroff JW, et al.: **JOURNAL OF EXPERIMENTAL BIOLOGY 207: 9, 1487-1490, 2004**
- 22) Incardona JP, Collier TK, Scholz NL: **TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY 196: 2, 191-205, 2004**
- 23) van den Hoff MJB, Kruithof BPT, Moorman AFM: **BIOESSAYS 26: 3, 248-261, 2004**
- 24) Huang CQ, Sheikh F, Hollander M, et al.: **DEVELOPMENT 130: 24, 6111-6119, 2003**
- 25) Berdougou E, Coleman H, Lee DH, et al.: **DEVELOPMENT 130: 24, 6121-6129, 2003**
- 26) Ishiwata T, Nakazawa M, Pu WT, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 93: 9, 857-865, 2003**
- 27) Harvey RP, Lai D, Elliott D, et al.: **COLD SPRING HARBOR SYMPOSIA ON QUANTITATIVE BIOLOGY 67, 107-114, 2002**

- 28) Schroder EA, Tobita K, Tinney JP, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 91: 4, 353-359, 2002**  
Tsyvian P, Malkin K, Artemieva O, et al.: **ULTRASOUND IN OBSTETRICS & GYNECOLOGY 20: 1, 35-41, 2002**
- 29) Tobita K, Schroder EA, Tinney JP, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 282: 6, H2386-H2396, 2002**
- 30) Chabert S, Taber LA: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 282: 4, H1248-H1254, 2002**
- 31) van den Hoff MJB, Kruithof BPT, Moorman AFM, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 240: 1, 61-76, 2001**
- 32) Phoon CKL: **CURRENT OPINION IN PEDIATRICS 13: 5, 456-464** Published: **OCT 2001**
- 33) Taber LA: **ANNUAL REVIEW OF BIOMEDICAL ENGINEERING 3, 1-25, 2001**
- 34) Taber LA, Zahalak GI: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 220: 3, 226-237, 2001**
- 35) Miller CE, Donlon KJ, Toia L, et al.: **IN VITRO CELLULAR & DEVELOPMENTAL BIOLOGY-ANIMAL 36: 10, 633-639, 2000**
- 36) Tobita K, Keller BB: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 279 Issue: 3, H959-H969, 2000**
- 37) Tobita K, Keller BB: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 279: 1, H216-H224, 2000**

Sedmera D, Thompson RP, Kolar F. 2003. Effect of increased pressure loading on heart growth in neonatal rats. *J Mol Cell Cardiol* 35:301-309. IF 5,246, citováno 7x

- 1) Leeuwenburgh BPJ, Helbing WA, Wenink ACG, et al.: **JOURNAL OF ANATOMY 212: 3, 286-294, 2008**
- 2) Tobita K, Liu LJ, Janczewski AM, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 4, H1829-H1837, 2006**
- 3) Lucitti JL, Visconti R, Novak J, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 4, H1919-H1926, 2006**  
Villamor E, Kessels CGA, van Suylen RJ, et al.: **BIOLOGY OF THE NEONATE 88: 3, 156-163, 2005**
- 4) Martini VCV, Mandarim-de-Lacerda CA: **INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY 100: 3, 377-382, 2005**

deAlmeida A, McQuinn T, Sedmera D. 2007. Increased ventricular preload is compensated by myocyte proliferation in normal and hypoplastic fetal chick left ventricle. *Circ Res* 100:1363-1370. IF 9,721, citováno 9x

- 1) Poelmann RE, Groot ACGD, Hierck BP: **MEDICAL & BIOLOGICAL ENGINEERING & COMPUTING 46: 5, 479-484, 2008**
- 2) Hierck BP, Van der Heiden K, Poelma C, et al.: **THESCIENTIFICWORLDJOURNAL 8, 212-222, 2008**
- 3) Groenendijk BCW, Van der Heiden K, Hierck BP, et al.: **PHYSIOLOGY 22: 6, 380-389, 2007**
- 4) Kohl T: **CIRCULATION RESEARCH 101: 10, E113-E113, 2007**
- 5) Hinton RB, Martin LJ, Tabangin ME, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY 50: 16, 1590-1595, 2007**
- 6) Grossfeld P: **CIRCULATION RESEARCH 100: 9, 1246-1248, 2007**

### 3. Architektura komor u nižších obratlovců

Srdce ryb a obojživelníků svojí strukturou nápadně připomínají embryonální srdce vyšších obratlovců. I když bližší ohledání ukáže významné rozdíly především v oblasti cév související se způsobem okysličování krve, a velké mezidruhové rozdíly související s jejich fyzickou aktivitou, přeci jen je podobnost zvláště komorového myokardu se svou houbovitou strukturou dosti nápadná.

Vzhledem ke stoupajícímu zájmu o model zebřičky jsme podali podrobný popis vývoje srdce se zaměřením na strukturu komor, chlopně, a korelaci s tlakovými parametry (Hu et al., 2000). V další studii na studenokrevných obratlovcích jsme se zaměřili kromě zebřičky i na drápatku – oblíbený model obojživelníků, a ukázali, že trabekulární architektura zde hraje kromě obligátní nutritivní funkce také roli ve vedení vzruchu komorou (Sedmera et al., 2003). Tyto články vyvolaly nečekaný ohlas a jsou hojně citovány.

Práce k problematice:

Hu N, Sedmera D, Yost HJ, Clark EB. 2000. Structure and function of the developing zebrafish heart. *Anat Rec* 260:148-157. IF 1,801, citováno 67x

- 1) Pleperhoff S, Franke WW: **EUROPEAN JOURNAL OF CELL BIOLOGY 87: 7, 413-430, 2008**
- 2) Sun L, Xu XC, Richard WD, et al.: **IEEE TRANSACTIONS ON BIOMEDICAL ENGINEERING 55: 8, 2039-2049, 2008**
- 3) Mehta V, Peterson RE, Heideman W: **TOXICOLOGICAL SCIENCES 104: 2, 303-311, 2008**
- 4) Baldessari D, Mione M: **PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS 118: 2, 206-230, 2008**
- 5) Luttun A, Verhamme P: **BIOESSAYS 30: 5, 418-422, 2008**
- 6) Shreenivasaiah PK, Rho SH, Kim T, et al.: **JOURNAL OF MOLECULAR AND CELLULAR CARDIOLOGY 44: 3, 460-469, 2008**
- 7) Sultana N, Nag K, Hoshijima K, et al.: **PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 105: 12, 4763-4768, 2008**
- 8) Lu J, Pereira F, Fraser SE, et al.: **JOURNAL OF BIOMEDICAL OPTICS 13: 1 Article Number: 014006, 2008**
- 9) Serluca FC: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 315: 1, 18-27, 2008**
- 10) Guerrero A, Duran AC, Icardo JM, et al.: **DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS 78: 2, 173-177, 2007**
- 11) Sun L, Lien CL, Xu XC, et al.: **ULTRASOUND IN MEDICINE AND BIOLOGY 34: 1, 31-39, 2008**
- 12) Baden KN, Murray J, Capaldi RA, et al.: **JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 282: 48, 34839-34849, 2007**
- 13) Bryson-Richardson RJ, Berger S, Schilling TF, et al.: **BMC BIOLOGY 5 Article Number: 34, 2007**
- 14) Kim KH, Antkiewicz DS, Yan L, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 308: 2, 494-506, 2007**
- 15) Keller BB: **CIRCULATION RESEARCH 100: 10, 1399-1401, 2007**
- 16) Schoenebeck JJ, Yelon D: **SEMINARS IN CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY 18: 1, 27-35, 2007**
- 17) Ho YL, Lin YH, Tsai IJ, et al.: **JOURNAL OF THE FORMOSAN MEDICAL ASSOCIATION 106: 3, 181-186, 2007**
- 18) Kopp R, Pelster B, Schwerte T: **COMPARATIVE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY A-MOLECULAR & INTEGRATIVE PHYSIOLOGY 146: 3, 400-407, 2007**
- 19) Risebro CA, Riley PR: **THE SCIENTIFIC WORLD JOURNAL 6, 1862-1880, 2006**
- 20) Incardona JP, Day HL, Collier TK, et al.: **TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY 217: 3, 308-321, 2006**
- 21) Mably JD, Chuang LP, Serluca FC, et al.: **DEVELOPMENT 133: 16, 3139-3146, 2006**
- 22) Wang WD, Huang CJ, Lu YF, et al.: **BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS 347: 4, 979-987, 2006**
- 23) Bagatto B, Francl J, Liu B, et al.: **BMC DEVELOPMENTAL BIOLOGY 6 Article Number: 23, 2006**

- 24) Carney SA, Chen J, Burns CG, et al.: **MOLECULAR PHARMACOLOGY 70: 2, 549-561, 2006**
- 25) Hove JR: **PEDIATRIC RESEARCH 60: 1, 6-13, 2006**
- 26) Showell C, Christine KS, Mandel EM, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 235: 6, 1623-1630, 2006**
- 27) Heideman W, Antkiewicz DS, Carney SA, et al.: **CARDIOVASCULAR TOXICOLOGY 5: 2, 203-214, 2005**
- 28) Freedom RM, Yoo SJ, Perrin D, et al.: **CARDIOLOGY IN THE YOUNG 15: 4, 345-364, 2005**
- 29) Fraysse B, Mons R, Garric J: **ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL SAFETY 63: 2, 253-267, 2006**
- 30) Grimes AC, Stadt HA, Shepherd IT, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 290: 2, 265-276, 2006**
- 31) Forouhar AS, Hove JR, Calvert C, et al. Conference Information: 26th Annual International Conference of the IEEE-Engineering-in-Medicine-and-Biology-Society, SEP 01-05, 2004 San Francisco, CA: **PROCEEDINGS OF THE 26TH ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE IEEE ENGINEERING IN MEDICINE AND BIOLOGY SOCIETY, VOLS 1-7** Book Series: **PROCEEDINGS OF ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE IEEE ENGINEERING IN MEDICINE AND BIOLOGY SOCIETY 26, 3615-3617** Part: **Part 1-7, 2004**
- 32) Icardo JM, Imbrogno S, Gattuso A, et al.: **JOURNAL OF EXPERIMENTAL ZOOLOGY PART A-COMPARATIVE EXPERIMENTAL BIOLOGY 303A: 8, 665-675, 2005**
- 33) Rottbauer W, Just S, Wessels G, et al.: **GENES & DEVELOPMENT 19: 13, 1624-1634, 2005**
- 34) Burggren W, Warburton S: **ANNUAL REVIEW OF PHYSIOLOGY 67, 203-223, 2005**
- 35) Antkiewicz DS, Burns CG, Carney SA, et al.: **TOXICOLOGICAL SCIENCES 84: 2, 368-377, 2005**
- 36) Trinh LA, Stainier DYR: **ZEBRAFISH: 2ND EDITION CELLULAR AND DEVELOPMENTAL BIOLOGY** Book Series: **METHODS IN CELL BIOLOGY 76, 455-+, 2004**
- 37) Lambrechts D, Carmeliet P: **DEVELOPMENTAL VASCULAR BIOLOGY** Book Series: **CURRENT TOPICS IN DEVELOPMENTAL BIOLOGY 62, 189-+, 2004**
- 38) Chan T, Burggren W: **RESPIRATORY PHYSIOLOGY & NEUROBIOLOGY 145: 2-3, 251-263, 2005**
- 39) Parg C: **CURRENT OPINION IN DRUG DISCOVERY & DEVELOPMENT 8: 1, 100-106, 2005**
- 40) Icardo JM, Guerrero A, Duran AC, et al.: **ANATOMY AND EMBRYOLOGY 208: 6, 439-449, 2004**
- 41) Cheng SH, Shakespeare T, Mui R, et al.: **JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 279: 35, 36993-37003, 2004**
- 42) Burggren WW: **PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ZOOLOGY 77: 3, 333-345, 2004**
- 43) Phoon CKL, Ji RP, Aristizabal O, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 95: 1, 92-99, 2004**
- 44) Guerrero A, Icardo JM, Duran AC, et al.: **JOURNAL OF MORPHOLOGY 260: 2, 172-183, 2004**
- 45) Incardona JP, Collier TK, Scholz NL: **TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY 196: 2, 191-205, 2004**
- 46) Christie TL, Mui R, White TW, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 286: 5, H1623-H1632, 2004**
- 47) Mably JD, Mohideen MAPK, Burns CG, et al.: **CURRENT BIOLOGY 13: 24, 2138-2147, 2003**
- 48) Shentu H, Wen HJ, Her GM, et al.: **GENESIS 37: 3, 103-112, 2003**
- 49) Kidd KR, Weinstein BM: **BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY 140: 4, 585-594, 2003**
- 50) Moorman AFM, Christoffels VM: **PHYSIOLOGICAL REVIEWS 83: 4, 1223-1267, 2003**
- 51) Huang CJ, Tu CT, Hsiao CD, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 228: 1, 30-40, 2003**
- 52) Phoon CKL, Turnbull DH: Conference Information: NHLBI Symposium on Phenotyping: Mouse Cardiovascular Function and Development, OCT 10-11, 2002 BETHESDA, MARYLAND: **PHYSIOLOGICAL GENOMICS 14: 1, 3-15, 2003**

- 53) Stainier DYR, Beis D, Jungblut B, et al.: Conference Information: Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology, 2002 COLD SPRING HARBOR, NEW YORK: **COLD SPRING HARBOR SYMPOSIA ON QUANTITATIVE BIOLOGY 67, 49-56, 2002**
- 54) Sato M, Yost HJ: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 257: 1, 127-139, 2003**
- 55) Li YX, Zdanowicz M, Young L, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 226: 3, 540-550, 2003**
- 56) Levine AJ, Munoz-Sanjuan I, Bell E, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 254: 1, 50-67, 2003**
- 57) Glickman NS, Yelon D: **SEMINARS IN CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY 13: 6, 507-513, 2002**
- 58) Schib JL, Icardo JM, Duran AC, et al.: **JOURNAL OF ANATOMY 201: 5, 395-404, 2002**
- 59) Ho YL, Shau YW, Tsai HJ, et al.: **ULTRASOUND IN MEDICINE AND BIOLOGY 28: 9, 1137-1143, 2002**
- 60) Stainier DYR: **M S-MEDICINE SCIENCES 18: 4, 448-456, 2002**
- 61) Chabert S, Taber LA: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 282: 4, H1248-H1254, 2002**
- 62) Phoon CKL: **CURRENT OPINION IN PEDIATRICS 13: 5, 456-464, 2001**
- 63) Yelon D: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 222: 4, 552-563, 2001**
- 64) Hu N, Yost HJ, Clark EB: **ANATOMICAL RECORD 264: 1, 1-12, 2001**
- 65) Lohr JL, Yost J: **AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS 97: 4, 248-257, 2000**
- 66) Stainier DYR: **NATURE REVIEWS GENETICS 2: 1, 39-48, 2001**

Sedmera D, Reckova M, DeAlmeida A, Sedmerova M, Biermann M, Volejnik J, Sarre A, Raddatz E, McCarthy RA, Gourdie RG, Thompson RP. 2003. Functional and morphological evidence for a ventricular conduction system in the zebrafish and Xenopus heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284:H1152-H1160. IF 3,973, citováno 30x

- 1) Chico TJA, Ingham PW, Crossman DC: **TRENDS IN CARDIOVASCULAR MEDICINE 18: 4, 150-155, 2008**
- 2) Chi NC, Shaw RM, Jungblut B, et al.: **PLOS BIOLOGY 6: 5, 1006-1019, 2008**
- 3) McGrath P, Li CQ: **DRUG DISCOVERY TODAY 13: 9-10, 394-401, 2008**
- 4) Kharin S, Antonova N, Shmakov D: **ANADOLU KARDIOLOJİ DERGİSİ-THE ANATOLIAN JOURNAL OF CARDIOLOGY 7, 95-97 Supplement: Suppl. 1, 2007**
- 5) Arnaout R, Ferrer T, Huisken J, et al.: **PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 104: 27, 11316-11321, 2007**
- 6) Moskowitz IPG, Kim JB, Moore ML, et al.: **CELL 129: 7, 1365-1376, 2007**
- 7) Mikawa T, Hurtado R: **SEMINARS IN CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY 18: 1, 90-100, 2007**
- 8) Azarov JE, Shmakov DN, Vityazev VA, et al.: **COMPARATIVE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY A-MOLECULAR & INTEGRATIVE PHYSIOLOGY 146: 3, 310-316, 2007**
- 9) Kharin S, Antonova N, Shmakov D: **COMPARATIVE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY A-MOLECULAR & INTEGRATIVE PHYSIOLOGY 145: 4, 540-545, 2006**
- 10) Wang WD, Huang CJ, Lu YF, et al.: **BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS 347: 4, 979-987, 2006**
- 11) Haverinen J, Vornanen M: **JOURNAL OF EXPERIMENTAL BIOLOGY 209: 3, 549-557, 2006**
- 12) Bishopric NH: Conference Information: 3rd Larry and Horti Fairberg Cardiac Workshop on Communicative Cardiac Cell, JAN 15-19, 2005 Sintra, PORTUGAL: **COMMUNICATIVE CARDIAC CELL Book Series: ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES 1047, 13-29, 2005**
- 13) Moorman AFM, Christoffels VM, Anderson RH: **HEART RHYTHM 2: 8, 875-886, 2005**
- 14) Garriock RJ, Meadows SM, Krieg PA: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 4, 1287-1293, 2005**
- 15) Rothenberg F, Watanabe M, Eloff B, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 2, 456-465, 2005**

- 16) Parnig C: **CURRENT OPINION IN DRUG DISCOVERY & DEVELOPMENT 8: 1, 100-106, 2005**
- 17) Joseph EM: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 231: 4, 720-726, 2004**
- 18) Rothenberg F, Efimov IR, Watanabe M: Conference Information: FASEB Experimental Biology Meeting, APR, 2004 Washington, DC: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 980-989, 2004**
- 19) Chuck ET, Meyers K, France D, et al.: Conference Information: FASEB Experimental Biology Meeting, APR, 2004 Washington, DC: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 990-1000, 2004**
- 20) Bartlett HL, Scholz TD, Lamb FS, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 286: 6, H2035-H2041, 2004**
- 21) Incardona JP, Collier TK, Scholz NL: **TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY 196: 2, 191-205, 2004**
- 22) Christie TL, Mui R, White TW, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 286: 5, H1623-H1632, 2004**



#### 4) Vývoj převodního systému u ptáků

Problematika vývoje převodního systému je těžištěm naší nynější výzkumné činnosti, a tomu odpovídá i počet předkládaných prací na toto téma.

Prvním článkem se značným ohlasem se stala práce z roku 2003 (Rečková et al.), jež kromě detailního popisu vývoje aktivační sekvence komor u kuřecího zárodku ukázala na významnou úlohu hemodynamiky při vývoji převodního systému. Následovala studie popisující expresi dvou genů z rodiny Wnt v oblasti diferencujícího se Hisova svazku a Tawarových ramének (Bond et al., 2003). Ve spolupráci s kolegy na Cornellově univerzitě v New Yorku jsme na dvou modelech ukázali, že vliv hemodynamických změn na převodní systém je s největší pravděpodobností zprostředkován cestou endotelinové signalizační kaskády (Hall et al., 2004). Následovala studie zabývající se detailně způsobem aktivace komor mezi 3. a 7. dnem inkubace, jež měla za cíl sjednotit rozporné údaje v literatuře a ukázala na aktivaci cestou tzv. primárního prstence, projevující se aktivací z oblasti základu mezikomorové přepážky (Sedmera et al., 2004). Tato práce byla výsledkem pozvané přednášky z *Experimental Biology* 2004, kde byla data aktivně veřejně diskutována s ostatními pracovníky z oboru.

V pozdějších pracích jsme korelovali změny aktivační sekvence komor s funkčními studii echokardiografickými a regionálními změnami v mechanických vlastnostech srdce (Butcher et al., 2007). Ukázalo se, že tyto změny během vývoje spolu pravděpodobně souvisí, a klíčovou roli zde hraje vznik funkčních chlopní. Jako další významný faktor při vyzrání převodního systému se ukázaly být buňky neurální lišty, kdysi dokonce považované za jeho přímé prekurzory. Na modelu laserové ablace neurální lišty jsme metodou optického mapování a histologie ukázali, že jejich úloha tkví ve vzniku fibrózní izolace komorového převodního systému, jež je nezbytné pro dosažení zralého způsobu aktivace komor od hrotu k bázi (Gurjarpadhye et al., 2007). Zatím posledním příspěvkem na toto téma byl průkaz role endotelinové signalizace v normálním, nejen indukovaném, vývoji převodního systému metodou zmapování exprese klíčového enzymu biosyntézy endotelinu (ECE-1) a farmakologické inhibice jeho receptorů (Sedmera et al., 2008).

Práce k problematice:

Reckova M, Rosengarten C, deAlmeida A, Stanley CP, Wessels A, Gourdie RG, Thompson RP, Sedmera D. 2003. Hemodynamics is a key epigenetic factor in development of the cardiac conduction system. *Circ Res* 93:77-85. IF 9,721, citováno 42x

- 1) Rugonyi S, Shaut C, Liu AP, et al.: **PHYSICS IN MEDICINE AND BIOLOGY 53: 18, 5077-5091, 2008**
- 2) Andelfinger G: **CLINICAL GENETICS 73: 6, 516-527, 2008**
- 3) Poelmann RE, Groot ACGD, Hierck BP: **MEDICAL & BIOLOGICAL ENGINEERING & COMPUTING 46: 5, 479-484, 2008**
- 4) Jongbloed MRM, Mahtab EAF, Blom NA, et al.: **THESCIENTIFICWORLDJOURNAL 8, 239-269, 2008**
- 5) Liu AP, Rugonyi S, Pentecost JO, et al.: Conference Information: 4th MIT Conference on Computational Fluid and Solid Mechanics, JUN 13-15, 2007 MIT, Cambridge, MA: **COMPUTERS & STRUCTURES 85: 11-14 Special Issue: Sp. Iss. SI, 727-738, 2007**
- 6) Jenkins MW, Adler DC, Garghesha M, et al.: **OPTICS EXPRESS 15: 10, 6251-6267, 2007**
- 7) Hamdan MH: **PACE-PACING AND CLINICAL ELECTROPHYSIOLOGY 30: 5, 587-590, 2007**
- 8) Henrikson CA, Spragg DD, Cheng A, et al.: **PACE-PACING AND CLINICAL ELECTROPHYSIOLOGY 30: 5, 591-595, 2007**
- 9) Meysen S, Marger L, Hewett KW, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 303: 2, 740-753, 2007**
- 10) Kolditz DP, Wijffels MCEF, Blom NA, et al.: **CIRCULATION 115: 1, 17-26, 2007**
- 11) Eralp I, Lie-Venema H, Bax NAM, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 288A: 12, 1272-1280, 2006**
- 12) Sengupta PP, Korinek J, Belohlavek M, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY 48: 10, 1988-2001, 2006**
- 13) Sarre A, Maury P, Kucera P, et al.: **JOURNAL OF CARDIOVASCULAR ELECTROPHYSIOLOGY 17: 12, 1350-1359, 2006**
- 14) Sakai T: **JOURNAL OF PHYSIOLOGICAL SCIENCES 56: 5, 385-388, 2006**
- 15) Chau MDL, Tuft R, Fogarty K, et al.: **MECHANISMS OF DEVELOPMENT 123: 8, 626-640, 2006**
- 16) Tobita K, Liu LJ, Janczewski AM, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 4, H1829-H1837, 2006**
- 17) Schmelter M, Ateghang B, Helmig S, et al.: **FASEB JOURNAL 20: 8, 1182+, 2006**
- 18) Swynghedauw B: **JOURNAL OF EXPERIMENTAL BIOLOGY 209: 12, 2320-2327, 2006**
- 19) Kharin SN, Shmakov DN: **COMPARATIVE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY A-MOLECULAR & INTEGRATIVE PHYSIOLOGY 143: 3, 326-331, 2006**
- 20) Jenkins MW, Rothenberg F, Roy D, et al.: Conference Information: OSA Topical Meeting on Signal Recovery and Synthesis, JUN, 2005 Charlotte, NC: **OPTICS EXPRESS 14: 2, 736-748, 2006**
- 21) Sengupta PP, Khandheria BK, Korinek J, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY 47: 1, 163-172, 2006**
- 22) Rothenberg F, Efimov IR: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 288A: 1, 3-7, 2006**
- 23) Rothenberg F, Watanabe M, Eloff B, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 2, 456-465, 2005**
- 24) Moldovan NI: **STEM CELLS AND DEVELOPMENT 14: 2, 111-121, 2005**
- 25) Burggren W, Warburton S: **ANNUAL REVIEW OF PHYSIOLOGY 67, 203-223, 2005**
- 26) Tobita K, Garrison JB, Liu LJ, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 283A: 1, 193-201, 2005**
- 27) Rothenberg F, Nikolski VP, Watanabe M, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 288: 1, H344-H351, 2005**
- 28) Joseph EM: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 231: 4, 720-726, 2004**

- 29) Rothenberg F, Efimov IR, Watanabe M: Conference Information: FASEB Experimental Biology Meeting, APR, 2004 Washington, DC: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 980-989, 2004**
- 30) Chuck ET, Meyers K, France D, et al.: Conference Information: FASEB Experimental Biology Meeting, APR, 2004 Washington, DC: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 990-1000, 2004**
- 31) Burggren WW: **PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ZOOLOGY 77: 3, 333-345, 2004**
- 32) Efimov IR, Nikolski VP, Salama G: **CIRCULATION RESEARCH 95: 1, 21-33, 2004**
- 33) Sakai T: **JAPANESE JOURNAL OF PHYSIOLOGY 53: 5, 385-388, 2003**

Bond J, Sedmera D, Jourdan J, Zhang Y, Eisenberg CA, Eisenberg LM, Gourdie RG. 2003. Wnt11 and Wnt7a are up-regulated in association with differentiation of cardiac conduction cells in vitro and in vivo. *Dev Dyn* 227:536-543. IF 3,084, citováno 9x

- 1) Kwon C, Arnold J, Hsiao EC, et al.: **PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 104: 26, 10894-10899, 2007**
- 2) Mikawa T, Hurtado R: **SEMINARS IN CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY 18: 1, 90-100, 2007**
- 3) Brade T, Manner J, Kuhl M: **CARDIOVASCULAR RESEARCH 72: 2, 198-209, 2006**
- 4) Eisenberg LM, Eisenberg CA: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 293: 2, 305-315, 2006**
- 5) Fishman GI: **CIRCULATION RESEARCH 96: 8, 809-811, 2005**
- 6) White SM, Claycomb WC: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 288: 2, H670-H679, 2005**
- 7) Jay PY, Harris BS, Buerger A, et al.: Conference Information: FASEB Experimental Biology Meeting, APR, 2004 Washington, DC: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 966-972, 2004**
- 8) Ouko L, Ziegler TR, Gu LH, et al.: **JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 279: 25, 26707-26715, 2004**

Hall CE, Hurtado R, Hewett KW, Shulimovich M, Poma CP, Reckova M, Justus C, Pennisi DJ, Tobita K, Sedmera D, Gourdie RG, Mikawa T. 2004. Hemodynamic-dependent patterning of endothelin converting enzyme 1 expression and differentiation of impulse-conducting Purkinje fibers in the embryonic heart. *Development* 131:581-592. IF 7,293, citováno 27x

- 1) Chi NC, Shaw RM, Jungblut B, et al.: **PLOS BIOLOGY 6: 5, 1006-1019, 2008**
- 2) Lie-Venema H, van den Akker NMS, Bax NAM, et al.: **THESCIENTIFICWORLDJOURNAL 7, 1777-1798, 2007**
- 3) Jongbloed MRM, Mahtab EAF, Blom NA, et al.: **THESCIENTIFICWORLDJOURNAL 8, 239-269, 2008**
- 4) Groenendijk BCW, Van der Heiden K, Hierck BP, et al.: **PHYSIOLOGY 22: 6, 380-389, 2007**
- 5) Mikawa T, Hurtado R: **SEMINARS IN CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY 18: 1, 90-100, 2007**
- 6) Meysen S, Marger L, Hewett KW, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 303: 2, 740-753, 2007**
- 7) Eralp I, Lie-Venema H, Bax NAM, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 288A: 12, 1272-1280, 2006**
- 8) Chau MDL, Tuft R, Fogarty K, et al.: **MECHANISMS OF DEVELOPMENT 123: 8, 626-640, 2006**
- 9) Tobita K, Liu LJ, Janczewski AM, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 291: 4, H1829-H1837, 2006**
- 10) Milan DJ, Giokas AC, Serluca FC, et al.: **DEVELOPMENT 133: 6, 1125-1132, 2006**
- 11) Wolf CM, Berul CI: **JOURNAL OF CARDIOVASCULAR ELECTROPHYSIOLOGY 17: 4, 446-455, 2006**

- 12) Jenkins MW, Rothenberg F, Roy D, et al.: Conference Information: OSA Topical Meeting on Signal Recovery and Synthesis, JUN, 2005 Charlotte, NC: **OPTICS EXPRESS 14: 2, 736-748, 2006**
- 13) Rothenberg F, Efimov IR: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 288A: 1, 3-7, 2006**
- 14) Moorman AFM, Christoffels VM, Anderson RH: **HEART RHYTHM 2: 8, 875-886, 2005**
- 15) Groenendijk BCW, Hierck BP, Vrolijk J, et al.: **CIRCULATION RESEARCH 96: 12, 1291-1298, 2005**
- 16) Rothenberg F, Watanabe M, Eloff B, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 2, 456-465**  
Published: **JUN 2005**
- 17) Moldovan NI: **STEM CELLS AND DEVELOPMENT 14: 2, 111-121, 2005**
- 18) Fishman GI: **CIRCULATION RESEARCH 96: 8, 809-811, 2005**
- 19) Patel R, Kos L: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 1, 20-28, 2005**
- 20) Tobita K, Garrison JB, Liu LJ, et al.: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 283A: 1, 193-201, 2005**
- 21) Joseph EM: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 231: 4, 720-726, 2004**
- 22) Myers DC, Fishman GI: Conference Information: FASEB Experimental Biology Meeting, APR, 2004 Washington, DC: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 1018-1021, 2004**

Sedmera D, Reckova M, Bigelow MR, DeAlmeida A, Stanley CP, Mikawa T, Gourdie RG, Thompson RP. 2004. Developmental transitions in electrical activation patterns in chick embryonic heart. *Anat Rec* 280A:1001-1009. IF 1,801, citováno 18x

- 1) Chuck E: **ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY 390: 7, 1677-1679, 2008**
- 2) Mikawa T, Hurtado R: **SEMINARS IN CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY 18: 1, 90-100, 2007**
- 3) Sengupta PP, Khandheria BK, Korinek J, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY 49: 8, 899-908, 2007**
- 4) Kolditz DP, Wijffels MCEF, Blom NA, et al.: **CIRCULATION 115: 1, 17-26, 2007**
- 5) Valderrabano M, Chen FH, Dave AS, et al.: **CIRCULATION 114: 6, 543-549, 2006**
- 6) Boineau JP: Conference Information: Symposium on New Concepts of Cardiac Anatomy and Physiology, MAY 28, 2005 Liverpool, ENGLAND: **EUROPEAN JOURNAL OF CARDIO-THORACIC SURGERY 29, S56-S60** Supplement: **Suppl. 1, 2006**
- 7) Chen FH, Klitzner TS, Weiss JN: **CELL CALCIUM 39: 5, 375-385, 2006**
- 8) Milan DJ, Giokas AC, Serluca FC, et al.: **DEVELOPMENT 133: 6, 1125-1132, 2006**
- 9) Sengupta PP, Khandheria BK, Korinek J, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY 47: 1, 163-172, 2006**
- 10) Rothenberg F, Watanabe M, Eloff B, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS 233: 2, 456-465, 2005**
- 11) Chuck ET, Meyers K, France D, et al.: Conference Information: FASEB Experimental Biology Meeting, APR, 2004 Washington, DC: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY 280A: 2, 990-1000, 2004**

Butcher JT, McQuinn TC, Sedmera D, Turner D, Markwald RR. 2007. Transitions in early embryonic atrioventricular valvular function correspond with changes in cushion biomechanics that are predictable by tissue composition. *Circ Res* 100:1503-1511. IF 9,721, citováno 10x

- 1) Schoen FJ: **CIRCULATION 118: 18, 1864-1880, 2008**
- 2) Stephens EH, Nguyen TC, Itoh A, et al.: Conference Information: 80th Annual Scientific Session of the American-Heart-Association, NOV 04-07, 2007 Orlando, FL: **CIRCULATION 118: 14, S243-S249** Supplement: **Suppl. 1, 2008**
- 3) Rugonyi S, Shaut C, Liu AP, et al.: **PHYSICS IN MEDICINE AND BIOLOGY 53: 18, 5077-5091, 2008**

- 4) Patwari P, Lee RT: **CIRCULATION RESEARCH 103: 3, 234-243, 2008**
- 5) Pekkan K, Dasi LP, Nourparvar P, et al.: **JOURNAL OF BIOMECHANICS 41: 8, 1697-1706, 2008**
- 6) Hierck BP, Van der Heiden K, Poelma C, et al.: **THESCIENTIFICWORLDJOURNAL 8, 212-222, 2008**
- 7) Norris RA, Moreno-Rodriguez RA, Sugi Y, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 316: 2, 200-213, 2008**
- 8) Pho M, Lee W, Watt DR, et al.: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 294: 4, H1767-H1778, 2008**
- 9) Groenendijk BCW, Van der Heiden K, Hierck BP, et al.: **PHYSIOLOGY 22: 6, 380-389, 2007**
- 10) Keller BB: **CIRCULATION RESEARCH 100: 10, 1399-1401, 2007**

Gurjarpadhye A, Hewett KW, Justus C, Wen X, Stadt H, Kirby ML, Sedmera D, Gourdie RG. 2007. Cardiac neural crest ablation inhibits compaction and electrical function of conduction system bundles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292:H1291-1300. IF 3,973, citováno 4x

- 1) Lopez V, Keen CL, Lanoue L: **BIOLOGICAL TRACE ELEMENT RESEARCH 122: 3, 238-255, 2008**
- 2) Jongbloed MRM, Mahtab EAF, Blom NA, et al.: **THESCIENTIFICWORLDJOURNAL 8, 239-269, 2008**
- 3) Rosenquist TH, Finnell RH: **AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY 292: 3, H1225-H1226, 2007**

Sedmera D, Harris BS, Grant E, Zhang N, Jourdan J, Kurkova D, Gourdie RG. 2008. Cardiac expression patterns of endothelin-converting enzyme (ECE): Implications for conduction system development. *Dev Dyn* 237:1746-1753. IF 3,084

### 5. Mechanismy řídicí vznik převodního systému u savců

Tato poslední kapitola představuje současnou aktivní výzkumnou činnost laboratoře, podpořenou grantem GA ČR 304/08/0615.

První práce na toto téma ukázala morfologickou podobnost ve vývoji převodního systému mezi kuřetem a myší, zvláště pak jeho časnou diferenciaci (Sedmera et al., 2003). Závěry této studie byly od té doby potvrzeny i dalšími laboratořemi, které studovaly tuto otázkou metodou klonální analýzy komorových kardiomyocytů.

Druhá studie opět hledala podobnosti, oproti často proklamovaným rozdílům, mezi aktivací komor u ptáků a savců, tentokrát na modelu potkana (Sedmera et al., 2005). Podobnosti byly nalezeny, a obecné závěry potvrdily i studie našich kolegů na králičím modelu a v poslední řadě naše nedávné studie na myších (Šebestová et al., 2008). Exkurzi do postnatálního období vývoje elektrické aktivace komor představovala pak práce analyzující funkční a morfologický fenotyp myši s vyřazeným transkripčním faktorem HF1b (Hewett et al., 2005), jež slouží jako jeden z modelů náhlé srdeční smrti.

Poslední výsledky z transgenních myších modelů ukazují, že i u savců je významným faktorem mechanická zátěž srdce, a rovněž endotelinová signalizační kaskáda. Podobně jako u kuřete se zdá, že tato závislost se silně odvíjí od studovaného stádia, a je přísně regulována v prostoru a v čase. Publikace na toto téma, rozvíjející abstrakta prezentovaná na konferencích (např. Šebestová et al., 2008) lze očekávat v horizontu nastávajících 2-3 let.

Práce k problematice:

Sedmera D, Reckova M, DeAlmeida A, Coppin SR, Kubalak SW, Gourdie RG, Thompson RP. 2003. Spatiotemporal pattern of commitment to slowed proliferation in the embryonic mouse heart indicates progressive differentiation of the cardiac conduction system. *Anat Rec* 274A:773-777. IF 1,801, citováno 27x

- 1) Briggs LE, Takeda M, Cuadra AE, et al.: **CIRCULATION RESEARCH** 103: 6, 580-590, 2008
- 2) Rojas A, Kong SW, Agarwal P, et al.: **MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY** 28: 17, 5420-5431, 2008
- 3) Bakker ML, Boukens BJ, Mommersteeg MTM, et al.: **CIRCULATION RESEARCH** 102: 11, 1340-1349, 2008
- 4) Jay PY: **CIRCULATION** 116: 22, 2520-2522m 2007
- 5) Moskowitz IPG, Kim JB, Moore ML, et al.: **CELL** 129: 7, 1365-1376, 2007
- 6) Meysen S, Marger L, Hewett KW, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY** 303: 2, 740-753, 2007
- 7) Visconti RP, Markwald RR: Conference Information: 4th Larry and Horti Fairberg Workshop on Interactive and Integrative Cardiology, APR 23-27, 2006 Charleston, SC: **INTERACTIVE AND INTEGRATIVE CARDIOLOGY** Book Series: **ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES** 1080, 19-33, 2006
- 8) Soufan AT, van den Berg G, Ruijter JM, et al.: **CIRCULATION RESEARCH** 99: 5, 545-552, 2006
- 9) Liu F, Ismat FA, Patel VV: **TRENDS IN CARDIOVASCULAR MEDICINE** 16: 6, 193-198, 2006
- 10) Togi K, Yoshida Y, Matsumae H, et al.: **BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS** 343: 1, 144-151, 2006
- 11) Harris BS, Spruill L, Edmonson AM, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS** 235: 1, 38-49, 2006
- 12) Graham V, Zhang HT, Willis S, et al.: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS** 235: 1, 143-151, 2006
- 13) Cai CL, Zhou WL, Yang L, et al.: **DEVELOPMENT** 132: 10, 2475-2487, 2005
- 14) Fishman GI: **CIRCULATION RESEARCH** 96: 8, 809-811, 2005
- 15) Patel R, Kos L: **DEVELOPMENTAL DYNAMICS** 233: 1, 20-28, 2005
- 16) Christoffels VM, Burch JBE, Moorman AFM: **TRENDS IN CARDIOVASCULAR MEDICINE** 14: 8, 301-307, 2004
- 17) Chuck ET, Meyers K, France D, et al.: Conference Information: FASEB Experimental Biology Meeting, APR, 2004 Washington, DC: **ANATOMICAL RECORD PART A-DISCOVERIES IN MOLECULAR CELLULAR AND EVOLUTIONARY BIOLOGY** 280A: 2, 990-1000, 2004
- 18) Moskowitz IPG, Pizard A, Patel VV, et al.: **DEVELOPMENT** 131: 16, 4107-4116, 2004

- 19) Ahuja P, Perriard E, Perriard JC, et al.: **JOURNAL OF CELL SCIENCE 117: 15, 3295-3306, 2004**
- 20) Pochampally RR, Neville BT, Schwarz EJ, et al.: **PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 101: 25, 9282-9285, 2004**
- 21) Stephenson A, Huang GY, Nguyen NT, et al.: **GENOMICS 83: 6, 1105-1115, 2004**
- 22) Jay PY, Harris BS, Maguire CT, et al.: **JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION 113: 8, 1130-1137, 2004**
- 23) Pashmforoush M, Lu JT, Chen HY, et al.: **CELL 117: 3, 373-386, 2004**

Sedmera D, Reckova M, Rosengarten C, Torres MI, Gourdie RG, Thompson RP. 2005. Optical mapping of electrical activation in the developing heart. *Microsc Microanal* 11:209-215. IF 1,914, citováno 6x

- 1) Sengupta PP, Khandheria BK, Korinek J, et al.: **JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY 49: 8, 899-908, 2007**
- 2) Kolditz DP, Wijffels MCEF, Blom NA, et al.: **CIRCULATION 115: 1, 17-26, 2007**
- 3) Borg TK, Stewart JA, Sutton MA: Conference Information: Microscopy and Microanalysis Meeting 2004, AUG 01-04, 2004 Savannah, GA: **MICROSCOPY AND MICROANALYSIS 11: 3, 189-199, 2005**

Hewett KW, Norman LW, Sedmera D, Barker RJ, Justus C, Zhang J, Kubalak SW, Gourdie RG. 2005. Knockout of the neural and heart expressed gene HF-1b results in apical deficits of ventricular structure and activation. *Cardiovasc Res* 67:548-560. IF 6,127, citováno 4x

- 1) Ramos B, Gaudilliere B, Bonni A, et al.: **PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 104: 23, 9882-9887, 2007**
- 2) Meysen S, Marger L, Hewett KW, et al.: **DEVELOPMENTAL BIOLOGY 303: 2, 740-753**  
Published: **MAR 15 2007**

Sebestova B, Sedmera D. 2008. Mechanical loading: an important epigenetic factor in ventricular conduction system development. *Exp Clin Cardiol* 13:151.

## Závěry a perspektivy

### Metodologické inovace

Ačkoliv metoda rastrovací elektronové mikroskopie není nová, přeci jen její kombinace s perfuzní fixací a pečlivou mikrodisekcí srdcí o velikosti několika milimetrů není jednoduchá a příliš rozšířená. Naše studie ukázaly, že na takto připravených preparátech je možné provádět mnohá kvantitativní měření, ať už porozitu, významnou pro inženýrské aplikace (Miller et al., 2003), tak orientaci trabekul, jež má význam pro lepší pochopení mechaniky kontrakce. Aplikace optického mapování pomocí vysokorychlostní kamery na embryonálních srdcích představuje technologickou inovaci, vedoucí k zpřesnění našeho poznání o vývoji aktivační sekvence a převodního systému. Oproti klasickým mikroelektrodám je neinvazivní, a umožňuje záznam z nesrovnatelně většího počtu bodů (až 10 000 při úplném využití senzoru 100x100 pixelů). Moderní kamery dostupné v současnosti již dosahují frekvence snímání a úrovně poměru signálu k šumu dosahovaného maticí fotodiod (Kamino, 1991; Efimov et al., 2000), výhodou kamery je navíc možnost současné vizualizace snímaného objektu a neskonale lepší prostorové rozlišení (matice fotodiod je nejčastěji v konfiguraci 16x16). Výhody kamery převažují zejména u embryonálních srdcí, kde dobré prostorové rozlišení je vzhledem k jejich mikroskopickým rozměrům a komplexní struktuře kritické a maximální rychlost 10 000 obrázků za vteřinu je více než dostačující vzhledem k pomalému vedení vzruchu ve srovnání s dospělou tkání. Navíc je možné, vzhledem k dostatečnému počtu senzorů, snímat aktivaci až ze tří stran zároveň pomocí strategicky položených miniaturních zrcadel (Gurjarpadhye et al., 2007). Zavedení této nové technologie nám pomohlo zodpovědět některé dlouho kladené otázky a vedlo v poměrně krátké době k vysokému počtu publikací. Korelace morfologických dat s funkčními nám umožnila lépe charakterizovat některé nové markery převodního systému. Například barvení pomocí protilátky PSA-NCAM (Chuck and Watanabe, 1997) bylo původně možné pouze na zmrazených řezech zalévaných do agarosy, což s sebou přinášelo suboptimální morfologii studovaných tkání. Adaptace protokolu pro standardní parafinové řezy (Reckova et al., 2003) umožnila přesnou korelaci barvení s oblastmi pomalé proliferace a izochronálními mapami aktivace povrchu komor. Rigorózní průkaz pomalé proliferace a velmi časně diferenciací centrálních částí komorového převodního systému u myši (Sedmera et al., 2003a), ač naznačen již dříve u potkana (Thompson et al., 1995) pomohl rozřešit otázku původu buněk převodního systému u savců.

### Vývoj myokardiální architektury a aktivační sekvence komor u teplokrevných obratlovců

Naše studie pomohly doplnit a zpřesnit popis morfogeneze komorového myokardu a aktivační sekvence komor během vývoje. U kuřecího zárodku jsme potvrdili dřívější data získaná pomocí rastrovací elektronové mikroskopie (Ben-Shachar et al., 1985; Icardo and Fernandez-Teran, 1987) a mikroelektrod (Chuck et al., 1997). Přínosnou se jeví kvantifikace vývoje tloušťky svaloviny komor, naznačené dříve Rychterovou (Rychterova, 1971) a recentní popis experimentálního modelu perturbace přestavby komorového myokardu (kompaktizace) za podmínek hypoxie (Nanka et al., 2008). Kromě již popsanych způsobů aktivace jsme objevili novou, dosud neznámou dočasnou aktivační cestu vedoucí po předním povrchu komor v místech základu mezikomorové přepážky. Nově interpretujeme nyní tuto cestu jako aktivaci využívající tzv. primary ring, což je prstenec molekulárně odlišných buněk v oblasti základu mezikomorové přepážky. Tato cesta je během normálního vývoje postupně nahrazena systémem Hisova svazku a Tawarových ramének, jež se formují na zadní straně, ale i u lidských srdcí byla popsána jak morfologicky (Kurosawa and Becker, 1985), tak funkčně (Krongrad and Malm, 1979). Její abnormální perzistence je dokumentována i u srdcí s vrozenými anomáliemi. Naše data tak dávají uvedené nálezy do širší perspektivy a ukazují na obecnou přítomnost této převodní cesty u různých tříd obratlovců.

Srovnávací studie na kuřecím zárodku a zárodcích myších a potkaních vyřešila zdánlivé rozpory mezi způsoby aktivace u kuřete (Chuck et al., 1997) a myši (Rentschler et al., 2001). Definováním jednotlivých milníků ve vývoji (pomalá peristaltoidní aktivace, aktivace podél mezikomorové přepážky, potom od hrotu k bázi s nejčasnější aktivací v oblasti vyústění pravého Tawarova raménka a posléze funkčnost obou ramének) jsme ukázali, že popsané rozdíly jsou způsobeny převážně různým časováním vyžívání převodního systému. Problémy s interpretací dat jsou způsobeny velmi úzkým zaměřením některých dnešních badatelů, kteří pracují výhradně na jednom modelu a tudíž je pro ně obtížné správně pochopit data z jiných laboratoří. To se, bohužel, týká jak dat funkčních, tak i morfologických. Dle ohlasů našich studií a diskuse po přednášce na konferenci



Experimentální Biologie 2004 a Microscopy and Microanalysis 2005 lze soudit, že se nám podařilo vnést alespoň trochu světla do této oblasti.

#### Vliv hemodynamiky na vývoj pracovního a převodního myokardu

Na rozdíl od dospělého myokardu, jež reaguje na zvýšenou tlakovou zátěž zbytněním buněk (hypertrofií), u embryonálního srdce je mechanismus přestavby založen na změnách proliferace kardiomyocytů, tj. hyper- nebo hypoplázii. Naše studie potvrdily tento předpoklad na nejrůznějších modelech včetně klinicky aplikovatelných (deAlmeida et al., 2007). Jako jeden z hlavních mediátorů převodu mechanických podnětů na proliferaci buněk jsme potvrdili FGF-2, který je opět potenciálně využitelný v klinických aplikacích (deAlmeida a Sedmera, *Cardiology in the Young*, v tisku).

Dalším z našich cílů bylo studium vlivu hemodynamiky na vyhrávaní funkce převodního systému během vývoje. Naše předcházející studie (Sedmera et al., 1999; Sedmera et al., 2002) přinesly detailní morfologickou charakterizaci dvou opačně působících zásahů do hemodynamiky kuřecího zárodku. Částečné podvázání konotrunkku vede ke zvýšené tlakové zátěži a akceleraci růstu založené na proliferaci buněk (Clark et al., 1989). Výsledkem však není pouze větší, normálně uspořádané srdce, ale dochází k významné přestavbě trabekulární architektury (spiralizace, zvýšení proporce kompaktní vrstvy), což ukazuje na zrychlení morfogeneze (Sedmera et al., 1999). Proto jsme použili tento model pro pokus o urychlení vyhrávaní převodního systému, a naše data ukázala, že skutečně dojde k předčasnému nástupu dospělého způsobu aktivace komor od hrotu k bázi (Reckova et al., 2003; Hall et al., 2004). Podobně snížené plnění levé komory u modelu levostranné srdeční hypoplázie vedlo ke zpomalení nástupu funkce převodního systému, zvláště pak levého Tawarova raménka (Reckova et al., 2003). Pozoruhodné bylo, že morfologicky se převodní svazky zdály být normální, takže se jedná pravděpodobně o funkční poruchu. Tyto studie se tak řadí mezi dřívější práce jiných autorů, které rovněž poukazují na kritickou úlohu hemodynamiky při vývoji srdce (Hogers et al., 1997; Hove et al., 2003).

#### Architektura a aktivace srdeční komory u nižších obratlovců

Schematika znázornění struktury komor u jednotlivých tříd obratlovců jsou důvěrně známa z různých učebnic biologie a zoologie, ovšem detailní a realistická vyobrazení včetně jejich mikrostruktury jsou vzácná. V tomto směru znamenaly naše publikace těchto vyobrazení (Hu et al., 2000; Sedmera et al., 2000; Sedmera et al., 2003b) v oblasti elektronové i světelné mikroskopie přínos pro obor. Zajímavá je v této souvislosti angioarchitektonika srdcí nižších obratlovců. U zebřičky pronikají do tenké zevní vrstvy komorové kompakty epikardiální cévy, ovšem trabekuly jsou bez cév a závislé na difuzi kyslíku a živin z lumen. U žab jsou tyto cévy rovněž vytvořeny, ovšem konkrétně u drápatky zásobují pouze myokard atrioventrikulárního kanálu a bulbus arteriosus, takže komora se svojí velmi tenkou kompaktní je opravdu bezcévná. Tato situace by byla dobře využitelná pro studium signalizace mezi myokardem a cévním řečištěm. Literatura ukazuje, že mezi nižšími obratlovcí existuje v tomto uspořádání značná variabilita, od plně koronárně perfundované svaloviny u velkých a aktivních ryb typu tuňáka po naprosto bezcévnou komoru u antarktických ryb (Ostadal and Schiebler, 1971; Tota et al., 1983).

Existence specializovaných převodních tkání v komoře nižších obratlovců byla po dlouhou dobu předmětem spekulací. Většina badatelů intuitivně cítila, že vzhledem k velikosti a komplexitě těchto srdcí by zde nějaký ekvivalent být měl, přesná data však chyběla. Podle morfologických kritérií postulovaných u savců se však organizované svazky nalézt nepodařilo (Nair, 1973; Mohsen et al., 1976). Navzdory jejich absenci však elektrokardiografický záznam z rybích a žabích srdcí nasvědčoval dobře organizované aktivaci (Re, 1964; Arbel et al., 1977). Stejně tak u plazů byla ukázána aktivace od hrotu k bázi, ovšem morfologický substrát zatím popsán nebyl (Christian and Grigg, 1999). Proto jsme se v naší studii (Sedmera et al., 2003b) soustředili primárně na funkční přístup. Pomocí optického mapování jsme ukázali, že nejčasněji aktivovanou částí komory je oblast blízko hrotu. To je obtížně vysvětlitelné bez přítomnosti specializovaných tkání, protože vzruch se šíří z předsíní skrz síňo-komorový kanál, a tudíž by prvně aktivovanou částí komor měla být báze. Podobná data byla získána i u jiných bezocasých obojživelníků (Dillon and Morad, 1981). Hlavním cílem těchto autorů byl však popis nové metodiky, a tak jejich výsledky byly opomíjeny.

Při hledání morfologického substrátu převodního systému u zebřičky a drápatky jsme narazili na minimálně větvené svazky trabekul, které se táhly od síňo-komorového kanálu přímo k oblasti nejčasnější aktivace. Tyto trabekuly vykazovaly vyšší intenzitu barvení protilátkou PSA-NCAM, jež značí rovněž vyvíjející se převodní

system u kuřete. Tyto svazky odpovídají časným preferenčním dráhám šíření aktivace v embryonálním srdci ptáků a savců, jež se po morfologické stránce značně podobají se srdcím nižších obratlovců (Sedmera et al., 2000). Jak bylo ukázáno na buněčných kulturách (Rohr et al., 1999) i na dospělém srdci (Morley and Vaidya, 2001), samotná geometrie myocytů je dostačující pro vytvoření preferenčních cest vedení vzruchu.

#### Signalizace ve specifikaci a diferenciaci převodního systému

Posledním bodem naší diskuse, jakož i tématem našeho současného výzkumu, je snaha o pochopení signalizace pro specifikaci a diferenciaci převodního systému na molekulární úrovni. Jak bylo zmíněno, tato oblast se v současnosti velmi rychle vyvíjí, a proto je obtížné naše poznatky zařadit do širších souvislostí. Velkým přínosem je zde studium myších mutantů, které ukazují na kritickou úlohu některých transkripčních faktorů pro vývoj převodního systému (Mommersteeg et al., 2007). Tyto studie jsou vítaným komplementem k našim výsledkům, protože přes rozsáhlé možnosti genetických manipulací na myších je velmi obtížné provádět perturbační hemodynamické studie na savčích zárodcích.

Prvním našim přínosem v této oblasti je další průkaz role signalizace pomocí endotelinu při specifikaci a maturaci převodního systému. Zvýšená exprese enzymu kritického pro regulaci aktivního endotelinu po částečném podvazu konotrunků (Hall et al., 2004) ukazuje na možnosti regulace v tomto systému. Podobně jeho snížení při levostranné srdeční hypoplázii (Sedmera et al., 2004) naznačuje souvislost mezi prouděním v komoře a přenosem této informace z endokardu na myocyty. Kromě těchto perturbačních studií jsme nedávno ukázali, že endotelinová signalizace má u kuřecího zárodka významnou úlohu i za normálního vývoje (Sedmera et al., 2008).

Jaké jsou však další prvky této endotelinové signalizační kaskády? Studie *in vitro* ukázaly, že endotelin vede k aktivaci exprese transkripčních faktorů Wnt7a a Wnt11 (Bond et al., 2003). Následná studie exprese těchto genů během vývoje ukázala jejich asociaci, jak v prostoru tak v čase, s vývojem převodního systému. Lze důvodně předpokládat, že celkový obraz je složitější, a že je zde zúčastněno podstatně více faktorů. Naše současné pokusy se snaží ozřejmit úlohu této signalizační kaskády na myším modelu. Předběžné výsledky ukazují, že jak mechanické faktory, tak endotelin mají svou roli, ovšem na přesně definovaných vývojových stádiích. Jsme přesvědčeni, že naše závěry z ptačího modelu budou u savců potvrzeny.

#### Perspektivy aplikace získaných poznatků.

Na závěr se zmíníme o potenciálních možnostech využití našich poznatků. Kromě čistě badatelského zájmu vidíme v současnosti tři možnosti aplikace. První je hledání faktorů, které mohou vést k poměrně nedávno popsané nekompaktované kardiomyopatii (Lurie, 2008). Kombinace myších trasgenních modelů s alternativními přístupy je zde nutná, neboť u všech dosud popsaných myší se jednalo o deficit v oblasti celé komory, oproti lokalizované poruše u člověka. Pro lokální testování faktorů ovlivňujících kompaktizaci se zdá kuřecí zárodek velmi vhodným modelem, a naše znalost normy jasným přínosem. Druhá zajímavá oblast je studium vývojového původu arytmií. Charakterizace faktorů klíčových pro vývoj převodního systému umožňuje screening pacientů s poruchami rytmu pro mutace v těchto genech. Skutečně se již podařilo připisat některé případy komorového bloku (a i dalších srdečních vad, protože struktura a funkce srdce jsou úzce spjaty) bodovým mutacím genu Nkx 2.5, jež vedou k funkčním změnám tohoto proteinu (Benson et al., 1999). Je též spekulováno, že některé případy preexcitace (Wolf-Parkinson-White syndrom) jsou způsobeny persistencí myokardu síňo-komorového kanálu, který normálně během vývoje zaniká (Kolditz et al., 2007; Kolditz et al., 2008), s výjimkou síňo-komorového uzlu (Wessels et al., 1996). Třetím odvětvím, které je prozatím poněkud stranou zájmu pro palčivější otázky, je projekt umělého srdce vytvořeného pomocí tkáňového inženýrství. Pokud se opravdu podaří vytvořit umělý myokard o dostatečné masě, bude nutné vyřešit kromě jeho cévního zásobení způsob jeho elektrického zapojení se zbytkem pracovního myokardu. Jakákoliv oblast pomalu vedoucí tkáň (kterou jsou doposud všechny konstrukty vytvořené *in vitro*) je silným proarytmogenním substrátem, což by bránilo klinické aplikaci. Dobrou zprávou je v tomto smyslu fakt, že samotná geometrie svalových vláken stačí k vytvoření preferenčních cest vedení, což by mohlo vést k diferenciaci umělého převodního systému pomocí modifikace tvaru konstruktů, což je technicky dobře schůdné i s dnešními postupy.

### Poděkování

Chtěl bych na tomto místě vyjádřit své díky všem, kteří mi pomohli při dosažení zde prezentovaných výsledků, jmenovitě pak těm, jejichž úlohu považuji za kritickou. Na prvním místě uvedu rodinu – rodiče, kteří mě podporovali během studií, a ženu Martinu, jíž patří díky především za její trpělivost. Dále bych chtěl zde poděkovat svým učitelům a mentorům, kteří mě vedli po vědecké dráze, chronologicky: Dr. Božena Novotná a Prof. Richard Jelínek (ÚEM AV ČR), Prof. Tomas Pexieder, Prof. Pavel Kucera a Dr. Eric Raddatz (Université de Lausanne), Prof. Robert H. Anderson (London, UK), Prof. Robert P. Thompson a Prof. Robert G. Gourdie (Charleston, SC). Díky patří i všem bývalým a současným spolupracovníkům, zvláště pak nemohu opominout Dr. Mariu Rečkovou, Angelu deAlmeida, a prof. Františka Koláře. Z technických pracovníků pak laborantům a laborantkám na histologickém a fyziologickém ústavu Université de Lausanne, oddělení buněčné biologie a anatomie na Medical University of South Carolina, a Anatomickém ústavu 1. LF UK. Poslední díky patří pak sponzorům, kteří danou práci financovali prostřednictvím grantů – NIH, FNRS, March of Dimes, MŠMT, a GA ČR.

## Literatura

- Antin PB, Fallon JF, Schoenwolf GC. 2004. The chick embryo rules (still)! *Dev Dyn* 229:413.
- Arbel ER, Liberthson R, Langendorf R, Pick A, Lev M, Fishman AP. 1977. Electrophysiological and anatomical observations on the heart of the African lungfish. *Am J Physiol* 232:H24-34.
- Arguello C, Alanis J, Pantoja O, Valenzuela B. 1986. Electrophysiological and ultrastructural study of the atrioventricular canal during the development of the chick embryo. *J Mol Cell Cardiol* 18:499-510.
- Ben-Shachar G, Arcilla RA, Lucas RV, Manasek FJ. 1985. Ventricular trabeculations in the chick embryo heart and their contribution to ventricular and muscular septal development. *Circ Res* 57:759-766.
- Benson DW, Silberbach GM, Kavanaugh-McHugh A, Cottrill C, Zhang Y, Riggs S, Smalls O, Johnson MC, Watson MS, Seidman JG, Seidman CE, Plowden J, Kugler JD. 1999. Mutations in the cardiac transcription factor NKX2.5 affect diverse cardiac developmental pathways [see comments]. *J Clin Invest* 104:1567-1573.
- Blausen BE, Johannes RS, Hutchins GM. 1990. Computer-based reconstructions of the cardiac ventricles of human embryos. *Am J Cardiovasc Pathol* 3:37-43.
- Bond J, Sedmera D, Jourdan J, Zhang Y, Eisenberg CA, Eisenberg LM, Gourdie RG. 2003. Wnt11 and Wnt7a are up-regulated in association with differentiation of cardiac conduction cells in vitro and in vivo. *Dev Dyn* 227:536-543.
- Clark EB, Hu N, Dummett JL, Vandekieft GK, Olson C, Tomanek R. 1986. Ventricular function and morphology in chick embryo from stages 18 to 29. *Am J Physiol* 250:H407-413.
- Clark EB, Hu N, Frommelt P, Vandekieft GK, Dummett JL, Tomanek RJ. 1989. Effect of increased pressure on ventricular growth in stage 21 chick embryos. *Am J Physiol* 257:H55-61.
- Clark EB, Hu N, Rosenquist GC. 1984. Effect of conotruncal constriction on aortic-mitral valve continuity in the stage 18, 21 and 24 chick embryo. *Am J Cardiol* 53:324-327.
- Clark EB, Hu N, Turner DR, Litter JE, Hansen J. 1991. Effect of chronic verapamil treatment on ventricular function and growth in chick embryos. *Am J Physiol* 261:H166-171.
- de Jong F, Opthof T, Wilde AA, Janse MJ, Charles R, Lamers WH, Moorman AF. 1992. Persisting zones of slow impulse conduction in developing chicken hearts. *Circ Res* 71:240-250.
- deAlmeida A, McQuinn T, Sedmera D. 2007. Increased ventricular preload is compensated by myocyte proliferation in normal and hypoplastic fetal chick left ventricle. *Circ Res* 100:1363-1370.
- Dillon S, Morad M. 1981. A new laser scanning system for measuring action potential propagation in the heart. *Science* 214:453-456.
- Durrer D, Buller J, Graaff P, Lo GI, Meyler FL. 1961. Epicardial excitation pattern as observed in the isolated revived and perfused fetal human heart. *Circ Res* 9:29-38.
- Efimov IR, Aguel F, Cheng Y, Wollenzier B, Trayanova N. 2000. Virtual electrode polarization in the far field: implications for external defibrillation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279:H1055-1070.
- Forouhar AS, Liebling M, Hickerson A, Nasiraei-Moghaddam A, Tsai HJ, Hove JR, Fraser SE, Dickinson ME, Gharib M. 2006. The embryonic vertebrate heart tube is a dynamic suction pump. *Science* 312:751-753.
- Gorza L, Vettore S, Vitadello M. 1994. Molecular and cellular diversity of heart conduction system myocytes. *Trends Cardiovasc Med* 4:153-159.
- Gourdie RG, Mima T, Thompson RP, Mikawa T. 1995. Terminal diversification of the myocyte lineage generates Purkinje fibers of the cardiac conduction system. *Development* 121:1423-1431.
- Gourdie RG, Wei Y, Kim D, Klatt SC, Mikawa T. 1998. Endothelin-induced conversion of embryonic heart muscle cells into impulse-conducting Purkinje fibers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:6815-6818.
- Gurjarpadhye A, Hewett KW, Justus C, Wen X, Stadt H, Kirby ML, Sedmera D, Gourdie RG. 2007. Cardiac neural crest ablation inhibits compaction and electrical function of conduction system bundles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292:H1291-1300.
- Hall CE, Hurtado R, Hewett KW, Shulimovich M, Poma CP, Reckova M, Justus C, Pennisi DJ, Tobita K, Sedmera D, Gourdie RG, Mikawa T. 2004. Hemodynamic-dependent patterning of endothelin converting enzyme 1 expression and differentiation of impulse-conducting Purkinje fibers in the embryonic heart. *Development* 131:581-592.

- Hamburger V, Hamilton HL. 1951. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J Morphol* 88:49-92.
- Hogers B, DeRuiter MC, Gittenberger-de Groot AC, Poelmann RE. 1997. Unilateral vitelline vein ligation alters intracardiac blood flow patterns and morphogenesis in the chick embryo. *Circ Res* 80:473-481.
- Hove JR, Koster RW, Forouhar AS, Acevedo-Bolton G, Fraser SE, Gharib M. 2003. Intracardiac fluid forces are an essential epigenetic factor for embryonic cardiogenesis. *Nature* 421:172-177.
- Hu N, Sedmera D, Yost HJ, Clark EB. 2000. Structure and function of the developing zebrafish heart. *Anat Rec* 260:148-157.
- Cheng G, Litchenberg WH, Cole GJ, Mikawa T, Thompson RP, Gourdie RG. 1999. Development of the cardiac conduction system involves recruitment within a multipotent cardiomyogenic lineage. *Development* 126:5041-5049.
- Christian E, Grigg GC. 1999. Electrical activation of the ventricular myocardium of the crocodile *Crocodylus johnstoni*: a combined microscopic and electrophysiological study. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 123:17-23.
- Chuck ET, Freeman DM, Watanabe M, Rosenbaum DS. 1997. Changing activation sequence in the embryonic chick heart. Implications for the development of the His-Purkinje system. *Circ Res* 81:470-476.
- Chuck ET, Watanabe M. 1997. Differential expression of PSA-NCAM and HNK-1 epitopes in the developing cardiac conduction system of the chick. *Dev Dyn* 209:182-195.
- Icardo JM, Fernandez-Teran A. 1987. Morphologic study of ventricular trabeculation in the embryonic chick heart. *Acta Anat* 130:264-274.
- Kamino K. 1991. Optical approaches to ontogeny of electrical activity and related functional organization during early heart development. *Physiol Rev* 71:53-91.
- Kamino K, Hirota A, Fujii S. 1981. Localization of pacemaking activity in early embryonic heart monitored using voltage-sensitive dye. *Nature* 290:595-597.
- Kolditz DP, Wijffels MC, Blom NA, van der Laarse A, Hahurij ND, Lie-Venema H, Markwald RR, Poelmann RE, Schalij MJ, Gittenberger-de Groot AC. 2008. Epicardium-derived cells in development of annulus fibrosis and persistence of accessory pathways. *Circulation* 117:1508-1517.
- Kolditz DP, Wijffels MC, Blom NA, van der Laarse A, Markwald RR, Schalij MJ, Gittenberger-de Groot AC. 2007. Persistence of functional atrioventricular accessory pathways in postseptated embryonic avian hearts: implications for morphogenesis and functional maturation of the cardiac conduction system. *Circulation* 115:17-26.
- Krongrad E, Malm JR. 1979. Intraoperative mapping in patients with univentricular hearts. *Herz* 4:232-238.
- Kurosawa H, Becker AE. 1985. Dead-end tract of the conduction axis. *Int J Cardiol* 7:13-20.
- Lurie PR. 2008. The perspective of ventricular noncompaction as seen by a nonagenarian. *Cardiol Young* 18:243-249.
- Miller CE, Wong CL, Sedmera D. 2003. Pressure overload alters stress-strain properties of the developing chick heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285:H1849-1856.
- Minot CS. 1901. On a hitherto unrecognised circulation without capillaries in the organs of Vertebrata. *Proc Boston Soc Nat Hist* 29:185-215.
- Mohsen T, Anthonioz P, Jadoun G. 1976. [Presence in the heart of *Protopterus annectens* (Fishes, Dipneuste) of nodal and conducting cells histologically distinct from common myocardial cells]. *C R Seances Soc Biol Fil* 170:712-715.
- Mommersteeg MT, Hoogaars WM, Prall OW, de Gier-de Vries C, Wiese C, Clout DE, Papaioannou VE, Brown NA, Harvey RP, Moorman AF, Christoffels VM. 2007. Molecular Pathway for the Localized Formation of the Sinoatrial Node. *Circ Res* 100:354-362.
- Moorman AF, de Jong F, Denyn MM, Lamers WH. 1998. Development of the cardiac conduction system. *Circ Res* 82:629-644.
- Morley GE, Vaidya D. 2001. Understanding conduction of electrical impulses in the mouse heart using high-resolution video imaging technology. *Microsc Res Tech* 52:241-250.
- Nair MG. 1973. The development of the nervous system in the heart of the Chinese carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus), with a special reference to its conducting system. *Mikroskopie* 29:1-7.

- Nanka O, Krizova P, Fikrle M, Tuma M, Blaha M, Grim M, Sedmera D. 2008. Abnormal myocardial and coronary vasculature development in experimental hypoxia. *Anat Rec (Hoboken)* 291:1187-1199.
- Nanka O, Valasek P, Dvorakova M, Grim M. 2006. Experimental hypoxia and embryonic angiogenesis. *Dev Dyn* 235:723-733.
- Ostadal B, Schiebler TH. 1971. [The terminal blood bed in the heart of fish]. *Z Anat Entwicklungsgesch* 134:101-110.
- Pinson CW, Morton MJ, Thornburg KL. 1991. Mild pressure loading alters right ventricular function in fetal sheep. *Circ Res* 68:947-957.
- Re A. 1964. [Intervention of sulfated waters in the onset and conduction of excitation in the isolated frog heart]. *Boll Soc Ital Biol Sper* 40:705-709.
- Reckova M, Rosengarten C, deAlmeida A, Stanley CP, Wessels A, Gourdie RG, Thompson RP, Sedmera D. 2003. Hemodynamics is a key epigenetic factor in development of the cardiac conduction system. *Circ Res* 93:77-85.
- Rentschler S, Vaidya DM, Tamaddon H, Degenhardt K, Sassoon D, Morley GE, Jalife J, Fishman GI. 2001. Visualization and functional characterization of the developing murine cardiac conduction system. *Development* 128:1785-1792.
- Rohr S, Kleber AG, Kucera JP. 1999. Optical recording of impulse propagation in designer cultures. Cardiac tissue architectures inducing ultra-slow conduction. *Trends Cardiovasc Med* 9:173-179.
- Rudolph AM. 2000. Myocardial growth before and after birth: clinical implications. *Acta Paediatr* 89:129-133.
- Rychter Z, Rychterova V. 1981. Angio- and Myoarchitecture of the Heart Wall under Normal and Experimentally changed Morphogenesis. In: Pexieder T, editor. *Perspectives in Cardiovascular Research*. New York: Raven Press. p 431-452.
- Rychter Z, Rychterova V, Lemez L. 1979. Formation of the heart loop and proliferation structure of its wall as a base for ventricular septation. *Herz* 4:86-90.
- Rychterova V. 1971. Principle of growth in thickness of the heart ventricular wall in the chick embryo. *Folia Morphol (Praha)* 19:262-272.
- Saiki Y, Konig A, Waddell J, Rebeyka IM. 1997. Hemodynamic alteration by fetal surgery accelerates myocyte proliferation in fetal guinea pig hearts. *Surgery* 122:412-419.
- Samson F, Bonnet N, Heimburger M, Rucker-Martin C, Levitsky DO, Mazmanian GM, Mercadier JJ, Serraf A. 2000. Left ventricular alterations in a model of fetal left ventricular overload. *Pediatr Res* 48:43-49.
- Sedmera D, Harris BS, Grant E, Zhang N, Jourdan J, Kurkova D, Gourdie RG. 2008. Cardiac expression patterns of endothelin-converting enzyme (ECE): Implications for conduction system development. *Dev Dyn* 237:1746-1753.
- Sedmera D, Hu N, Weiss KM, Keller BB, Denslow S, Thompson RP. 2002. Cellular changes in experimental left heart hypoplasia. *Anat Rec* 267:137-145.
- Sedmera D, Pexieder T, Rychterova V, Hu N, Clark EB. 1999. Remodeling of chick embryonic ventricular myoarchitecture under experimentally changed loading conditions. *Anat Rec* 254:238-252.
- Sedmera D, Pexieder T, Vuillemin M, Thompson RP, Anderson RH. 2000. Developmental patterning of the myocardium. *Anat Rec* 258:319-337.
- Sedmera D, Reckova M, Bigelow MR, DeAlmeida A, Stanley CP, Mikawa T, Gourdie RG, Thompson RP. 2004. Developmental transitions in electrical activation patterns in chick embryonic heart. *Anat Rec* 280A:1001-1009.
- Sedmera D, Reckova M, DeAlmeida A, Copen SR, Kubalak SW, Gourdie RG, Thompson RP. 2003a. Spatiotemporal pattern of commitment to slowed proliferation in the embryonic mouse heart indicates progressive differentiation of the cardiac conduction system. *Anat Rec* 274A:773-777.
- Sedmera D, Reckova M, DeAlmeida A, Sedmerova M, Biermann M, Volejnik J, Sarre A, Raddatz E, McCarthy RA, Gourdie RG, Thompson RP. 2003b. Functional and morphological evidence for a ventricular conduction system in the zebrafish and *Xenopus* heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284:H1152-H1160.
- Streeter DDJ. 1979. Gross Morphology and fiber geometry of the heart. In: Berne RM, Sperelakis N, Geiger SR, editors. *Handbook of Physiology - Section 2: The Cardiovascular System*. Bethesda: Am Physiol Soc. p 61-112.

- Suma K. 2001. Sunao Tawara: a father of modern cardiology. *Pacing Clin Electrophysiol* 24:88-96.
- Takebayashi-Suzuki K, Yanagisawa M, Gourdie RG, Kanzawa N, Mikawa T. 2000. In vivo induction of cardiac Purkinje fiber differentiation by coexpression of preproendothelin-1 and endothelin converting enzyme-1. *Development* 127:3523-3532.
- Thomas PS, Kasahara H, Edmonson AM, Izumo S, Yacoub MH, Barton PJ, Gourdie RG. 2001. Elevated expression of Nkx-2.5 in developing myocardial conduction cells. *Anat Rec* 263:307-313.
- Thompson RP, Kanai T, Germroth PG, Gourdie RG, Thomas PC, Barton PJ, Mikawa T, Anderson RH. 1995. Organization and Function of Early Specialized Myocardium. In: Clark EB, Markwald RR, Takao A, editors. *Developmental Mechanisms of Heart Disease*. Armonk, NY: Futura Publishing. p 269-279.
- Tomanek RJ. 1996. Formation of the coronary vasculature: a brief review. *Cardiovasc Res* 31 Spec No:E46-51.
- Tota B, Cimini V, Salvatore G, Zummo G. 1983. Comparative study of the arterial and lacunary systems of the ventricular myocardium of elasmobranch and teleost fishes. *Am J Anat* 167:15-32.
- Wessels A, Markman MW, Vermeulen JL, Anderson RH, Moorman AF, Lamers WH. 1996. The development of the atrioventricular junction in the human heart. *Circ Res* 78:110-117.
- Witkowski FX, Clark RB, Larsen TS, Melnikov A, Giles WR. 1997. Voltage-sensitive dye recordings of electrophysiological activation in a Langendorff-perfused mouse heart. *Can J Cardiol* 13:1077-1082.