

Les structures nerveuses du cœur et leur caractéristique immunohistochimique chez des fœtus de porc de 10 semaines

Comptes Rendus Biologies 343 (2020) 53-62

Amelia Franke-Radowiecka ; Nina Zmijewska ; Tomasz Zubkiewicz ; Michal Zalecki ; Magdalena Klimczuk ; Zanita Listowska ; Jerzy Kaleczyc

(traduction post-éditée par N. Bacaër, suggestions d'amélioration : nicolas.bacaer@ird.fr)



Résumé

L'objectif du présent étude était d'examiner la disposition des cellules et des fibres nerveuses, ainsi que de leur codage, aux cœurs de fœtus de porc de 10 semaines. Les fœtus, obtenus dans un abattoir locale, ont été fixés par immersion dans la solution de paraformaldéhyde 4% (pH 7,4). Des coupes de cœurs, obtenues à l'aide du cryostat, ont subi une coloration immunohistochimique simple ou double afin de dépister, dans des structures nerveuses, la présence du produit génétique protéiné (PGP), de la dopamine bêta-hydroxylase (D β H), du transporteur vésiculaire de l'acétylcholine (VAcHT) et du peptide relié au gène calcitonine (CGRP). De nombreuses concentrations de cellules nerveuses PGP-positives ont été observées dans la paroi cardiaque. La plupart des concentrations ont été retrouvées en dessous de l'épicarde, autour de la racine de l'aorte, du tronc pulmonaire et des veines principales. Des neurones singuliers PGP-positifs ou des petites concentrations de cellules nerveuses ont été observées dans l'épicarde des oreillettes et des ventricules du cœur. Le plus riche réseau de fibres nerveuses PGP-positives a été observé dans la base du cœur, près de l'acheminement des vaisseaux principaux. Dans les quatre chambres du cœur, de nombreux faisceaux de fibres nerveuses PGP-positives ont été observées. Des colorations immunohistochimiques doubles ont démontré que la plupart de neurones présentaient une immunoréactivité par rapport à VAcHT, certains par rapport à CGRP, et des corps singuliers de cellules nerveuses étaient positives par rapport à D β H. Des fibres nerveuses alimentant le cœur présentaient une immunoréactivité par rapport à D β H, VAcHT ou CGRP. La distribution et le codage neurochimique des structures nerveuses chez des fœtus de 10 semaines diffèrent de ceux observés dans les cœurs de jeunes porcs.

1. Introduction

Un aspect important des études cardiaques est la neuroanatomie de cet organe [1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6]. La recherche sur les structures nerveuses a donné de nouvelles perspectives sur les aspects pathologiques de la fonction cardiaque. Les connaissances acquises sont déjà utilisées pour d'autres investigations, c'est-à-dire des essais cliniques [2 , 5]. Les recherches ont été principalement menées sur le cœur humain [3 , 7 , 8] ainsi que sur plusieurs espèces animales dont la souris [5], le rat [9], le cobaye [10], le chien [11], lapin [12], génisse [6] et porc [1 , 2 , 13 , 14]. Un domaine scientifique très intéressant, en cours de développement intensif, est la xénotransplantologie [13 , 14 , 15]. On pense actuellement que les porcs domestiques sont les meilleurs candidats au don d'organes. Ce fait encourage une recherche plus large et plus approfondie sur cette espèce animale. Les expériences actuelles de xénotransplantation utilisent le plus souvent des porcs comme donneurs et des babouins comme modèles humains. Les porcs, en ce qui concerne leurs paramètres physiologiques, sont des espèces très similaires aux humains [13 , 14 , 15], entre autres, ils ont un débit cardiaque, une tension artérielle proche ou une osmolarité urinaire très similaires [13 , 14 , 15]. Malgré une connaissance considérable de la neuroanatomie cardiaque [1 , 2 , 3 , 13 , 14], on en sait peu sur l'innervation du cœur fœtal chez les mammifères, y compris le porc. Les données existantes concernent principalement le cœur du fœtus humain [3 , 16 , 17]. Ces données indiquent que le développement de l'innervation cardiaque autonome se déroule en plusieurs étapes et se poursuit au début de la vie postnatale [17] ainsi que les neurones autonomes et leurs précurseurs présentent une plasticité substantielle [17 , 18]. Les troubles du cheminement normal du développement, même aux premiers stades du développement, peuvent entraîner des maladies cardiovasculaires chez l'enfant ou à l'âge adulte. Un exemple de ceci est la bradycardie sinusale chez les souris dépourvues de Nrp1 (neuropiline 1) et de Sema3a

(sémaphorine 3A), une importante protéine axonale du cône de croissance. Leur absence entraîne une migration défectueuse du tronc des cellules de la crête neurale (CCN) et se traduit par des ganglions sympathiques ectopiques et un ganglion stellaire mal formé comme centre principal des neurones dont les axones alimentent le tissu cardiaque [17 , 19 , 20 , 21 , 22]. Un autre exemple est l'hypertension et les maladies coronariennes, auxquelles les nourrissons de naissance précoce ou de faible poids à la naissance sont prédisposés, car la maturation du système nerveux autonome n'est pas encore terminée et le cœur est sous l'influence dominante de l'innervation sympathique. En raison du fait que le porc domestique est un modèle animal important en neurocardiologie expérimentale [2 , 13 , 14] et en xénotransplantation [13 , 14 , 15 , 23], il vaut la peine d'étudier de plus près le bon développement de l'innervation cardiaque au cours du développement prénatal. Compte tenu de la vitesse rapide et de la complexité élevée du développement de l'innervation cardiaque, du retard de l'avancement de son composant sympathique, ainsi que de la première apparition de certaines substances biologiquement actives (par exemple, le CGRP) dans les structures nerveuses au plus tôt au milieu de la grossesse [17 , 19 , 20 , 21 , 22], il a été décidé d'examiner l'apport nerveux cardiaque du fœtus porcin au cours de la seconde moitié de la grossesse. Par conséquent, la présente étude visait à étudier la distribution et le codage chimique des structures nerveuses dans le cœur de fœtus porcins âgés de 10 semaines (ces fœtus, en tant que matériel de recherche unique dans les abattoirs, constituaient le groupe fœtal le plus ancien obtenu) et peuvent être considérés comme un point de départ pour des investigations plus poussées portant sur les changements développementaux survenant aux stades précoces et ultérieurs de la grossesse.

2. Matériels et méthodes

Des fœtus porcins âgés de dix semaines (n = 5) ont été obtenus à l'abattoir «Warmia» (Biskupiec, Pologne). Conformément à la loi polonaise et à une directive européenne (n ° 2010/63 / UE), les expériences réalisées dans la présente étude ne nécessitent pas l'approbation du comité d'éthique. L'âge des fœtus a été marqué selon la méthode de la longueur couronne-croupe (LCR). Le CRL définit la distance entre le haut de la tête de l'embryon ou du fœtus entrant dans la limite inférieure des fesses [24]. Après avoir retiré les fœtus de l'utérus, le thorax et la peau abdominale ont été coupés pour une meilleure pénétration de la solution fixative chez tous les animaux prélevés. Les fœtus ont été fixés par immersion dans du paraformaldéhyde tamponné à 4% (pH 7,4; 4 h), rincés avec du tampon phosphate (pH 7,4; pendant une nuit, au réfrigérateur) et transférés dans une solution de saccharose tamponnée à 18% (pH 7,4) où ils ont été conservés, jusqu'au traitement ultérieur. Les cœurs ont été disséqués, découpés sur des coupes cryostatiques de 12 µm d'épaisseur et traités pour une immunofluorescence à simple ou double marquage (comme décrit précédemment; [25 , 26]) en utilisant des anticorps primaires contre PGP, D β H, VACHT, CGRP et anticorps secondaires correspondants (tableau 1). Après séchage à l'air à température ambiante (TA) pendant 30 minutes, les coupes ont été pré-incubées avec un mélange de blocage contenant 10% de sérum de cheval normal, 1% d'albumine de sérum bovin et 0,05% de Tween 20 dans du PBS (1 h, RT). Ils ont ensuite été incubés avec un mélange d'anticorps secondaires appropriés (énumérés dans le tableau 1). Après rinçage dans du PBS (3 x 10 min), les lames ont été recouvertes de glycérol tamponné au carbonate (pH 8,6).

Tableau 1. Liste des antisérums primaires et des réactifs secondaires utilisés dans l'étude

Antigen	Species	Code	Dilution	Supplier
Primary antibodies				
PGP 9.5	Mouse	7863-2004	1:400	Biorad
DβH	Mouse	MAB308	1:500	Millipore
DβH	Rabbit	BML-DZ1020-0050	1:500	Enzo
VACHT	Rabbit	V5387	1:200	Sigma
CGRP	Rabbit	C8198	1:600	Sigma
Secondary reagents				
Goat AlexaFluor 488 anti-mouse		A11001	1:400	Invitrogen
Goat AlexaFluor 488 anti-rat		A11006	1:400	Invitrogen
Goat AlexaFluor 555 anti-rabbit		A11010	1:400	Invitrogen

L'omission des antisérums primaires et leur remplacement par des sérums normaux non immuns (lapin, souris ou rat) ont été utilisés pour étudier la spécificité du marquage immunohistochimique. Aucune fluorescence n'a été

observée dans aucune de ces colorations témoins, ce qui a confirmé la spécificité de la coloration. Les coupes marquées ont été visualisées sous un microscope à fluorescence Zeiss Axiophot équipé d'épifluorescence et d'un jeu de filtres approprié pour AlexaFluor 488 et AlexaFluor 555. Le nombre total d'amas de nerfs cardiaques ou de neurones dans les grands ganglions cardiaques a été compté dans chaque tranche sur quatre compte tenu de la taille de l'ensemble des neurones cardiaques (les neurones n'étaient pas plus grands que 20 μm). Pour déterminer le pourcentage (comme décrit précédemment, [25 , 27]) de populations neuronales particulières, au moins 100 profils neuronaux pour chaque combinaison d'antisérums ont été comptés. Les coupes de ganglions sino-auriculaires et auriculo-ventriculaires ont été collectées dans différentes régions représentatives des ganglions (à partir de son tiers supérieur, moyen et inférieur).

3. Résultats

3.1. Corps des cellules nerveuses

La coloration immunohistochimique de la PGP a montré que de nombreux amas de cellules nerveuses étaient observés dans tout le cœur du fœtus (tableau 2). La majorité des grappes ont été trouvées sous l'épicarde autour de la racine de l'aorte, du tronc pulmonaire et des veines principales. Le ganglion sino-auriculaire s'est avéré comprendre le plus grand nombre (262 \pm 12) des corps de cellules nerveuses PGP-positives (figure 1 a). Dans la paroi auriculaire droite, un grand amas de cellules nerveuses PGP-positives a également été observé - le ganglion auriculo-ventriculaire (236 \pm 13). Les neurones formant les deux ganglions étaient principalement ovales avec un gros noyau situé au centre de la cellule. La taille de ces neurones était de 16 à 20 μm . Autour du segment cardiaque de la partie ascendante de l'aorte, de nombreux amas sphériques dispersés constitués pour la plupart de plus d'une douzaine de cellules nerveuses ont été observés. Les autres, contenant de 10 à 30 neurones PGP positifs, étaient répartis près de l'artère pulmonaire et des amas plus petits (5 à 10 neurones) ont été observés près des vaisseaux veineux. De nombreux petits groupes composés de 6 à 10 neurones PGP positifs ont été observés dans l'épicarde des deux oreillettes, à proximité des artères coronaires (Figure 1 g). Le plus petit nombre de neurones a été observé dans l'épicarde des ventricules cardiaques. C'étaient des cellules nerveuses uniques ou rassemblées en petits groupes. Le nombre de petits amas de cellules nerveuses dans toute la région du cœur était de 117 \pm 21. La taille des neurones dans les petits amas de cellules était légèrement plus petite (11–17 μm) que ceux des grands ganglions.

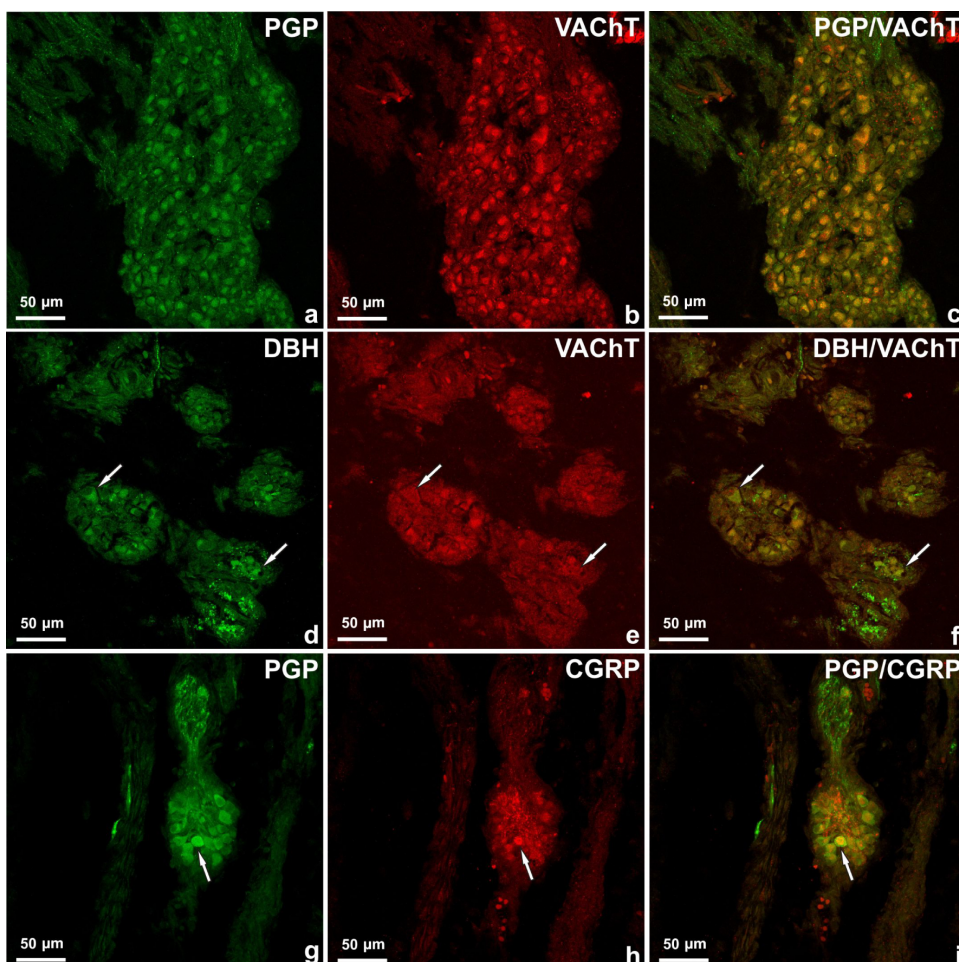


Figure 1. Coupe longitudinale du ganglion sino-auriculaire au cœur d'un foetus de porc (a – c) âgé de 10 semaines marqué pour PGP (a) et VChT (b). Le grand nombre de neurones PGP positifs contenait une immunoréactivité à VChT. Images fusionnées 1a et 1b (c). Amas de cellules nerveuses situés autour du segment cardiaque de la partie ascendante de l'aorte (d – f). Certains neurones contenus immunoréactifs à D β H (d), mais étaient VChT négatifs (E, flèches). Dans le petit groupe de corps nerveux (g – i) qui a été observé dans l'épicarde des oreillettes gauches, à proximité des artères coronaires, des neurones PGP-positifs uniques (g) contenaient du CGRP (h). Images fusionnées 1g et 1h (i).

Tableau 2. Nombre total de neurones PGP positifs comptés dans différentes zones du cœur et pourcentages de sous-populations neuronales particulières contenant des substances étudiées dans les neurones cardiaques PGP positifs

Ganglia	Total number of neurons	Percentage of particular neuronal subpopulations		
	PGP	PGP/VChT	PGP/CGRP	PGP/D β H
Sinoatrial	262 \pm 12	53,8%	13,2%	1,6%
Atrioventricular	236 \pm 13	51,7%	13,9%	1,2%
Smaller clusters of neurons	117 \pm 21	41,22%	Single	9,42%

Les doubles colorations immunohistochimiques ont révélé que la majorité des neurones PGP positifs contenaient une immunoréactivité à VChT (figure 1 a – c), CGRP (figure 1 g – i) et les cellules nerveuses uniques étaient D β H-positives (figure 1 d – f). Dans le ganglion sino-auriculaire et auriculo-ventriculaire du cœur de foetus porcs âgés de 10 semaines, un grand nombre de neurones PGP-positifs contenaient une immunoréactivité à VChT (53,8% et 51,7% respectivement), certains à CGRP (13,2 % et 13,9% respectivement) et quelques-uns étaient D β H-positifs (respectivement 1,6% et 1,2%). Les neurones uniques étaient DBH / VChT-positifs. Dans les petits groupes de corps nerveux, les neurones contenaient principalement du VChT (41,22%), quelques D β H (9,42%) et les cellules d'un seul corps nerveux étaient positives pour le CGRP (Figure 1 g – i).

3.2. Fibres nerveuses

La coloration immunohistochimique de la PGP a montré que de nombreux faisceaux de fibres nerveuses ont été observés dans toutes les cavités cardiaques du cœur fœtal de porc (tableau 3). Le réseau le plus riche de fibres nerveuses PGP-positives a été observé à la base du cœur, à proximité des principales ouvertures des vaisseaux sanguins cardiaques (Figure 2une). Les faisceaux nerveux étaient parfois associés à des neurones uniques ou à de petits groupes de cellules nerveuses. La plupart des faisceaux nerveux ont été observés dans l'épicarde, avec moins dans le myocarde et l'endocarde. Généralement, beaucoup d'entre eux ont été trouvés dans l'épicarde auriculaire gauche et droit et étaient moins nombreux observés dans l'épicarde ventriculaire gauche et droit. De nombreuses fibres nerveuses PGP-positives étaient distribuées dans l'endocarde, dans le septum interauriculaire et certaines dans le septum interventriculaire. Des faisceaux plus minces ou des fibres nerveuses uniques ont été observés dans le myocarde des oreillettes et des ventricules (figure 2 g) du cœur.

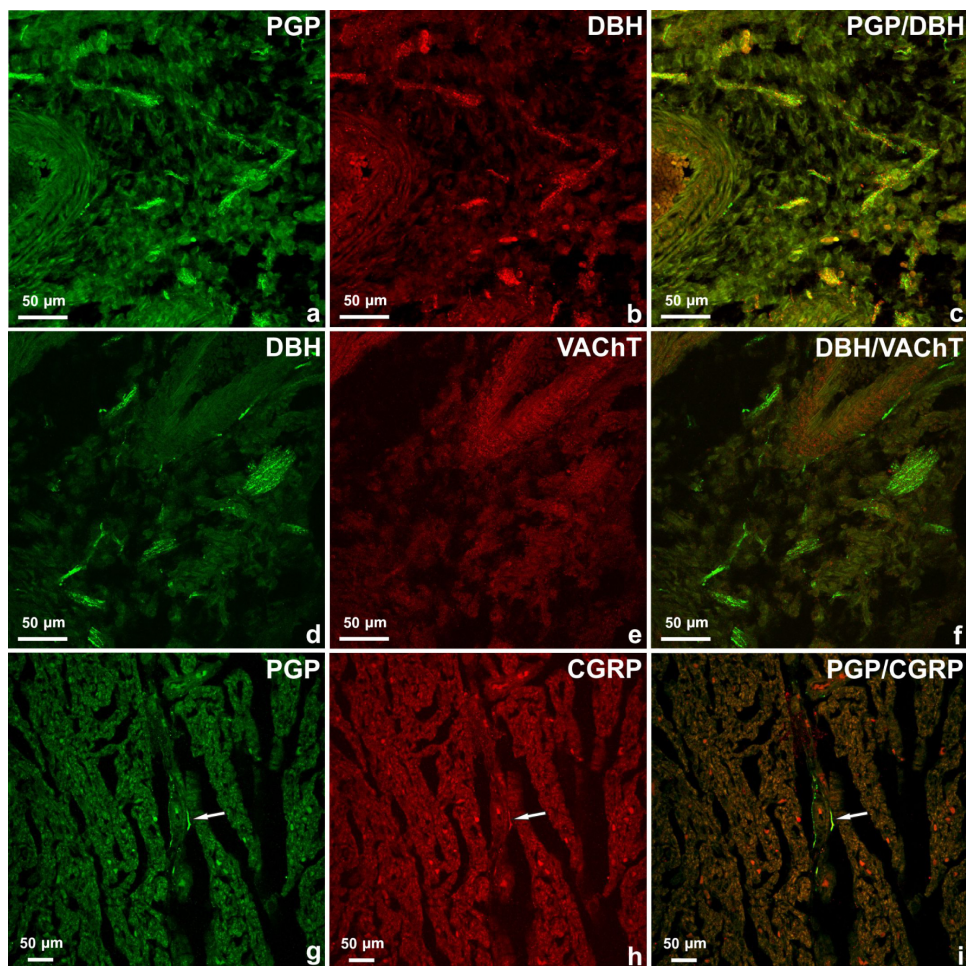


Figure 2. Le réseau le plus riche de fibres nerveuses a été observé à la base du cœur à proximité des ouvertures principales des vaisseaux sanguins cardiaques (a – f). La majorité des fibres nerveuses PGP-positives (a) étaient D β H -positives (b). D de les fibres nerveuses H-positives (d) ont été VACHT-négatives (e). Des fibres nerveuses PGP positives (g, flèche) ont été observées dans le myocarde du ventricule droit. Certains d'entre eux contenaient une immunoréactivité au CGRP (h). Images fusionnées 2g et 2h (i).

Tableau 3. Fréquence relative des fibres nerveuses PGP-IR, D β H-IR, VACHT-IR et CGRP-IR dans le cœur de fœtus porcine âgé de 10 semaines

Nerve fibres		Right atrium	Right ventricle	Left atrium	Left ventricle
Epicardium	PGP	++++	++++	++++	++++
	PGP/D β H	++++	+++	++++	+++
	PGP/VACHT	++	+	++	+
	PGP/CGRP	++	+	++	+
Myocardium	PGP	+++	+++	+++	+++
	PGP/D β H	++	++	++	++
	PGP/VACHT	+	+	+	+
	PGP/CGRP	++	++	++	++
Endocardium	PGP	+++	+++	+++	+++
	PGP/D β H	++	++	++	++
	PGP/VACHT	+	+	+	+
	PGP/CGRP	++	++	++	++

Many fibres + + + + +, moderate number of fibres + + + +, low number of fibres + + +, few fibres + +, single fibres +.

La majorité des fibres nerveuses épicrodiques, myocardiennes et endocardiennes étaient D β H-positives (Tableau 2), (Figure 2 a – c). Un petit nombre de fibres étaient positives pour le VACHT. Les nerfs positifs pour le DBH / VACHT n'ont pas été observés (Figure 2 d – f). Peu d'axones observés dans l'épicrode ou le myocarde contenaient une immunoréactivité au CGRP et des nerfs uniques ont été trouvés dans l'endocarde de quatre cavités cardiaques (Figure 2 g – i). Il n'y avait pas de co-localisation du CGRP avec d'autres substances étudiées dans les fibres nerveuses alimentant le cœur du fœtus.

4. Discussion

Comme mentionné précédemment, le développement de l'innervation autonome du cœur est un processus en plusieurs étapes [17 , 18]. Au cours de la cinquième semaine du développement prénatal humain, le NCC commence à migrer vers l'aorte dorsale puis à se différencier en neurones. Après ce processus, les neurones migrent pour former une chaîne sympathique paravertébrale ou des ganglions cardiaques parasympathiques et enfin les axones des cellules du corps nerveux s'allongent et pénètrent dans le tissu cardiaque. Ce processus se poursuit jusqu'aux premières semaines après la naissance [17 , 18 , 28 , 29]. Selon l'étude actuelle, au cœur du fœtus porcin âgé de 10 semaines, il existe des structures nerveuses cardiaques typiques. Cependant, en analysant les résultats obtenus, il est clair que le processus de maturation, de migration et de prolifération des structures du système nerveux dans la région cardiaque n'est pas encore terminé. Cela peut être conclu par le nombre de neurones dans le ganglion sino-auriculaire, auriculo-ventriculaire, ainsi que par le nombre et la distribution de petits groupes de cellules nerveuses par rapport aux pores juvéniles [1 , 2 , 13 , 14]. Des études antérieures ont montré que dans le cœur des porcelets âgés de quelques semaines, il y avait en moyenne 359 ± 178 neurones dans les grands ganglions [2] tandis que dans le cœur de fœtus de porc âgés de 10 semaines, il y avait moins de corps de cellules nerveuses (249 ± 10) observés. Le nombre de petits ganglions chez les porcelets [2] était plus nombreux que dans le cœur du fœtus porcin (respectivement 361 ± 52 et 117 ± 21) et la plupart d'entre eux ont été observés dans l'oreillette gauche et dans la région des ventricules gauche et droit des cœurs de porcelet [2]. Les petits ganglions cardiaques du fœtus ont été principalement observés à la base du cœur et au voisinage des artères coronaires tandis que les plus petits ont été observés dans l'épicrode des ventricules cardiaques. Il y avait des cellules nerveuses uniques ou rassemblées en très petits groupes. En comparant les résultats, les différences dans la distribution d'un petit groupe de neurones dans le cœur des porcelets [2 , 13 , 14] et les fœtus de 10 semaines sont visibles, ce qui suggère fortement qu'ils sont toujours en cours de migration. De plus, il peut sembler que l'innervation du cœur porcin mûrit plus lentement que chez l'homme. Il a été observé que chez les fœtus humains âgés de 24 semaines (à peu près, proportionnellement, temps de gestation similaire chez un porc), le schéma de distribution de l'innervation cardiaque a été observé chez les adultes [16]. Cela peut être associé à un système nerveux intrinsèque cardiaque plus étendu chez le porc que chez l'homme, ce qui est une caractéristique du cœur porcin mais qui fait également une grande différence dans la morphologie du cœur des deux espèces et peut aujourd'hui poser des difficultés pour le fonction du donneur cardiaque par le porc transgénique [13 , 14 , 15].

En analysant la distribution des fibres nerveuses dans la région du cœur du fœtus porcin et du porcelet, des différences dans la distribution et la quantité de fibres sont également perceptibles. Comme décrit par Crick et al. [14], un gradient d'immunoréactivité pour la PGP a été observé à partir du plexus dense des fibres nerveuses dans l'épicrode et l'endocarde, dans une moindre mesure dans le tissu myocardique. Compte tenu de la distribution de l'innervation dans différentes zones du cœur du porcelet, les tissus épicrodiques affichaient un gradient de densité ventriculaire-auriculaire, les tissus myocardiennes présentaient un gradient auriculaire-ventriculaire et, pour les tissus endocardiennes, un distinct de droite à gauche gradient de chambre a été observé, avec le ventricule droit possédant la plus haute et l'oreillette gauche possédant la plus faible densité de nerfs [14]. En général, beaucoup moins de fibres nerveuses ont été observées dans l'endocarde et le myocarde chez le fœtus de porc. Les plexus et les fibres nerveux étaient principalement disposés dans l'épicrode des deux oreillettes et étaient beaucoup moins observés dans la région des ventricules, ce qui est une nette différence entre le cœur fœtal et cet organe chez l'animal après la naissance. Il est très probable qu'au stade étudié du développement prénatal, les axones sont en cours d'élongation et pénètrent dans le tissu cardiaque.

En se référant à la caractérisation immunohistochimique des structures nerveuses dans le cœur fœtal, il a été observé que la survenue de VACHT, DBH ou CGRP dans les fibres nerveuses est également légèrement différente de celle chez le porc juvénile au stade de développement étudié.

On sait que l'ontogenèse de l'innervation cardiaque parasympathique et intrinsèque précède l'innervation sympathique [14 , 16 , 17 , 30] et les nerfs cholinergiques ont été présentés à 12 semaines de gestation et les nerfs adrénergiques n'ont pas été identifiés dans cet organe jusqu'à 18 semaines de gestation en le cœur du fœtus humain [16 , 31 , 32 , 33] mais il n'y a pas de données concernant le cœur du fœtus porcin. En analysant les

résultats obtenus, il a été observé que chez le fœtus porcin âgé de dix semaines, la majorité des neurones cardiaques contenaient du VACHT alors que les seuls étaient D β H-positifs par rapport au cœur de porcelet [14]. Cette observation peut suggérer une partie sympathique encore en développement du système nerveux intrinsèque cardiaque. Une autre observation concerne les fibres nerveuses alimentant le cœur du fœtus porcin. De nombreuses fibres, en particulier celles présentes dans l'épicarde et contenant du DBH, sont principalement des nerfs sympathiques post-ganglionnaires efférents, tandis que les fibres intrinsèques ne font que se former. Les fibres nerveuses VACHT-positives étaient visibles dans l'épicarde et les fibres simples étaient visibles dans le myocarde et l'endocarde. Ces nerfs provenaient probablement des ganglions cardiaques et étaient au stade de la pénétration et de l'élongation. Les neurones positifs au CGRP et les fibres nerveuses constituaient la sous-population la plus abondante dans le cœur du porcelet [14]. La plupart de ces structures nerveuses proviennent du système nerveux cardiaque intrinsèque et contiennent simultanément une immunoréactivité à l'AChE [14]. Le CGRP de ces fibres nerveuses a probablement été impliqué dans la vasodilatation coronarienne [34] et pourrait également jouer un rôle dans l'effet inotrope négatif à médiation neutre sur la fonction myocardique observé lors de la vasoconstriction coronarienne cholinergique chez le porc [14 , 35]. D'autres fibres nerveuses positives pour le CGRP sont sensorielles et proviennent des neurones des ganglions de la racine vagale ou dorsale [14 , 36]. Chez le fœtus porcin âgé de dix semaines, les neurones positifs au CGRP ont été principalement observés dans les grands ganglions cardiaques intrinsèques (13,55%) et les nerfs étaient faiblement visibles dans toute la région cardiaque. Ces observations confirment l'idée que l'innervation autonome du cœur se développe encore. Chez l'homme, les fibres nerveuses (sensorielles) positives pour le CGRP / SP n'ont été détectées que 24 semaines de gestation [16]. On sait que l'innervation sensorielle apparaît plus tardivement que l'innervation autonome [13 , 14 , 16], ce qui est également confirmé dans la présente étude.

En résumé, cette étude a décrit les structures nerveuses du cœur et leur caractérisation immunohistochimique chez des fœtus porcins âgés de dix semaines. La répartition des structures nerveuses chez les fœtus de dix semaines représente un niveau d'avancement relativement élevé, cependant, elle est différente de celle observée au cœur de porcs de plusieurs semaines [2 , 13 , 14]. Le codage neurochimique des structures nerveuses du cœur à ce stade de développement est légèrement différent de celui observé dans le cœur de porcs de plusieurs semaines [13] et il est associé à un système nerveux cardiaque encore en développement. Les présents résultats constitueront la base d'observations ultérieures du cœur en développement chez le fœtus porcin et il convient de souligner ces études, qui fournissent des détails sur le développement et le fonctionnement du cœur chez un porc en tant que donneur potentiel de cet organe pour l'homme.

Les conflits d'intérêts

Les auteurs n'ont aucun conflit d'intérêts à déclarer.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Anna Przyborowska et Aleksander Penkowski pour leurs contributions à la préparation de cet article. Cette publication a été soutenue par le RID (Projet co-soutenu financièrement par le Ministre de la Science et de l'Enseignement Supérieur dans le cadre du programme intitulé «Initiative Régionale d'Excellence» pour les années 2019-2022). Projet n ° 010 / RID / 2018/19, montant du financement 12.000.000 PLN.

Bibliographie

1. R. C. Arora; M. Waldmann; D. A. Hopkins; J. A. Armour Porcine intrinsic cardiac ganglia, *Anat. Rec.*, Volume 271 (2003), pp. 249-258
2. D. Batulevicius; V. Skripka; N. Pauziene; D. H. Pauza. Topography of the porcine epicardiac nerve plexus as revealed by histochemistry for acetylcholinesterase, *Auton. Neurosci.*, Volume 138 (2008), pp. 64-75
3. E. Gardner; R. O'Rahilly The nerve supplying and conducting system of the human heart at the end of the embryonic period proper, *J. Anat.*, Volume 121 (1976), pp. 571-587
4. D. H. Pauza; V. Skripka; N. Pauziene Morphology of the intrinsic cardiac nervous system in the dog: a whole-mount study employing histochemical staining with acetylcholinesterase, *Cells Tissues Organs*, Volume 172 (2002), pp. 297-320
5. D. H. Pauza; K. Rysevaite; H. Inokaitis; M. Jokubauskas; A. G. Pauza; K. E. Brack; N. Pauziene Innervation of sinoatrial nodal cardiomyocytes in the mouse. A combined approach using immunofluorescent and electron microscopy, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, Volume 75 (2014), pp. 188-197

6. N. Demus Organometry heart heifers depending on autonomous regulation heart rate. , Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, Volume 17 (2015), pp. 24-29
7. D. H. Pauza; V. Skripka; N. Pauziene; R. Stropus Morphology, distribution and variability of the epicardiac neural ganglionated subplexuses in the human heart, *Anat. Rec.*, Volume 259 (2000), pp. 353-382
8. R. B. Smith Development of innervation of coronary arteries in human foetus up until 230 mm stage (mid-term), *Br. Heart J.*, Volume 32 (1970), pp. 108-113
9. D. Batulevicius; N. Pauziene; D. H. Pauza Topographic morphology and age-related analysis of the neuronal number of the rat intracardiac nerve plexus, *Ann. Anat.*, Volume 185 (2003), pp. 449-459
10. D. Batulevicius; N. Pauziene; D. H. Pauza Architecture and age-related analysis of the neuronal number of the guinea pig intrinsic cardiac nerve plexus, *Ann. Anat.*, Volume 187 (2005), pp. 225-243
11. D. H. Pauza; V. Skripka; N. Pauziene; R. Stropus Anatomical study of the neural ganglionated plexus in the canine right atrium: implications for selective denervation and electrophysiology of the sinoatrial node in dog, *Anat. Rec.*, Volume 255 (1999), pp. 271-294
12. I. Saburkina; L. Gukauskienė; K. Rysevaite; K. E. Brack; A. G. Pauza; N. Pauziene; D. H. Pauza Morphological pattern of intrinsic nerve plexus distributed on the rabbit heart and interatrial septum, *J. Anat.*, Volume 224 (2014), pp. 583-593
13. S. J. Crick; R. H. Anderson; S. Yen Ho; M. N. Sheppard Localization and quantitation of autonomic innervation of the porcine heart II: endocardium, myocardium and pericardium, *J. Anat.*, Volume 195 (1999b), pp. 359-373
14. S. J. Crick; M. N. Sheppard; S. Yen Ho; R. H. Anderson Localization and quantitation of autonomic innervation of the porcine heart I: conduction system, *J. Anat.*, Volume 195 (1999a), pp. 341-357
15. M. Samiec; M. Skrzyszowska The possibilities of practical application of transgenic mammalian species generated by somatic cell cloning in pharmacology, veterinary medicine and xenotransplantation, *Pol. J. Vet. Sci.*, Volume 2 (2011), pp. 329-340
16. L. Gordon; J. M. Polak; G. J. Moscoso; A. Smith; D. M. Kuhn; J. Wharton Development of peptidergic innervation of the human heart, *J. Anat.*, Volume 183 (1993), pp. 131-140
17. W. Hasan Autonomic cardiac innervation, *Organogenesis*, Volume 9 (2013), pp. 176-193
18. S. R. Yiallourou; S. A. Sands; A. M. Walker; R. S. C. Horne Maturation of heart rate and blood pressure variability during sleep in term-born infants, *Sleep*, Volume 35 (2012), pp. 177-186
19. M. Ieda; H. Kanazawa; K. Kimura; K. Matsumura; Y. Tomita; T. Yagi; T. Onizuka; K. Shimoji; S. Ogawa; S. Makino; M. Sano; K. Fukuda Nerve growth factor is critical for cardiac sensory innervation and rescues neuropathy in diabetic hearts, *Circulation*, Volume 114 (2006), pp. 2351-2363
20. M. Ieda; H. Kanazawa; Y. Ieda; K. Kimura; F. Hartori; Y. Ieda; M. Taniguchi; J. K. Lee; K. Matsumura; Y. Tomita; S. Miyoshi; K. Shimoda; S. Makino; M. Sano; I. Kodama; S. Ogawa; K. Fukuda Sema3a maintains normal heart rhythm through sympathetic innervation patterning, *Nat. Med.*, Volume 13 (2007), pp. 604-612
21. A. Fantin; C. H. Madan; C. Ruhrberg Neuropilin ligands in vascular and neuronal patterning, *Biochem. Soc. Trans.*, Volume 37 (2009), pp. 1228-1232
22. Q. Schwarz; C. H. Maden; J. M. Vieira; C. Ruhrberg Neuropilin 1 signaling guides neural crest cells to coordinate pathway choice with cells specification, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Volume 106 (2009), pp. 6164-6169
23. M. M. Mohiuddin; B. Reichart; G. W. Byrne; C. G. A. McGregor Current status of pig heart xenotransplantation, *Int. J. Surg.*, Volume 23 (2015), pp. 234-239
24. H. E. Evans; W. O. Sack Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references, *Anat. Histol. Embryol.*, Volume 2 (1973), pp. 11-45
25. A. Franke-Radowiecka Immunohistochemical characterisation of dorsal root ganglia neurons supplying the porcine mammary gland, *Histol. Histopathol.*, Volume 26 (2011), pp. 1509-1517
26. M. Zalecki Localization and neurochemical characteristics of the extrinsic sympathetic neurons projecting to the pylorus in the domestic pig, *J. Chem. Neuroanat.*, Volume 43 (2012), pp. 1-13
27. W. Sienkiewicz; A. Dudek; A. Zacharko-Siembida; M. Marszałek Immunohistochemical characterization of the jugular (superior vagal) ganglion in the pig, *Pol. J. Vet. Sci.*, Volume 20 (2017), pp. 377-385
28. J. A. Armour Intrinsic cardiac neurons involved in cardiac regulation possess alpha 1-, alpha 2-, beta 1- and beta 2-adrenoceptors, *Can. J. Cardiol.*, Volume 13 (1997), pp. 277-284
29. D. C. Randall; D. R. Brown; A. S. McGuirt; G. W. Thompsom; J. A. Armour; J. L. Ardell Interactions within the intrinsic cardiac nervous system contribute to chronotropic regulation, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, Volume 285 (2003), pp. 1066-1075
30. A. J. Pappano Ontogenetic development of autonomic neuroeffector transmission and transmitter reactivity in embryonic and fetal hearts, *Pharmacol. Rev.*, Volume 29 (1977), pp. 3-33

31. W. G. Dail; G. C. Palmer Localisation and correlation of catecholamine-containing cells with adenylyl cyclase and phosphodiesterase activities in the human fetal heart, *Anat. Rec.*, Volume 177 (1973), pp. 265-288
32. L. Kanerva; A. Hervonen; H. Hervonen Morphological characteristics of the ontogenesis of the mammalian peripheral adrenergic nervous system with special remarks on the human fetus, *Med. Biol.*, Volume 52 (1994), pp. 144-153
33. S. Partanen; O. Korkala Catecholamines in human fetal heart, *Experientia*, Volume 30 (1974), pp. 798-800
34. A. Franco-Ceraceda; J. M. Lundberg; T. Hökfelt Somatostatin: an inhibitory parasympathetic transmitter in the human heart?, *Eur. J. Pharmacol.*, Volume 132 (1986), p. 101-102
35. J. Cinca; A. Carreno; L. Moni; P. Blanch; J. Soler-Soler Neurally-mediated negative inotropic effect impairs myocardial function during cholinergic coronary vasoconstriction in pig, *Circulation*, Volume 94 (1996), pp. 1101-1108
36. S. Forsgren Distribution of calcitonin gene-related immunoreactivity in the bovine conduction system: correlation with substance, *Regul. Pept.*, Volume 52 (1994), pp. 7-19