

О.Ю.Потоцька

Дніпропетровська державна
медична академія

УДК 611.12:611.013

ПОХОДЖЕННЯ ЕПІКАРДУ ТА ЙОГО СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ ВНЕСОК У ФОРМУВАННЯ ГЕТЕРОГЕННОСТІ СЕРЦЯ

Аналітичний огляд та фрагменти дослідження проведені у рамках науково-дослідної роботи „Аналіз нормального й аномального гістогенезу тканинних компонентів серцево-судинної системи людини та експериментальних тварин” (номер державної реєстрації 0105U007837).

Ключові слова: проепікард, епікард, клітини-деривати епікарду.

Резюме. В роботі проаналізовано основні риси будови проепікарду, морфогенетичні процеси формування епікарду та структурно-функціональні значення клітин-дериватів епікарду. Проепікард є виростами латеральної плоскої мезодерми (очеревинного мезотелію), що розташовані між печінкою та венозним синусом у птахів та в регіоні поперечної перегородки у ссавців; містить клітини трьох типів та проепікардіальний позаклітинний матрикс. Результатом огортання серцевої трубки проепікарду є формування цілісного епікардіального шару. Клітини епікарду (окрім регіону передсердь) залучаються до процесу епітеліо-мезенхімної трансформації, результатом якої є утворення клітин-дериватів епікарду. Останні дають початок наступним клітинним популяціям: гладким міоцитам, адвентиційним фібробlastам коронарних судин, фібробlastам фіброзно-еластичного скелету серця, інтерстиційним фібробlastам; дискутабельно продовжує залишатись диференціація клітин-дериватів епікарду в ангиобласти та гемангиобласти, кардіоміоцити. Функціональна роль цих клітин полягає в участі у процесах компактизації міокарду, септації, формуванні ендокардіальних подушок АВ-каналу, фіброзного скелета серця, розвитку пасивної механіки серця, петлеутворення, диференціації волокон Пуркінє. Подальших дослідження будуть пов'язані з встановленням видових особливостей цих процесів, їх молекулярних основ та розкриттю ембріональних потенцій зрілих клітин, що походять з клітин-дериватів епікарду.

Надійшла: 02.09.2007

Прийнята: 10.12.2007

Морфологія.- 2008.- Т.ІІ, №1.- С.6-15

© О.Ю.Потоцька, 2008

Pototskaya O.Yu. Origin of epicardium, it's structural and functional role in heart heterogeneity formation.

Summary. In this work the major features of proepicardium structure, morphogenetic processes of epicardial formation and structural & functional role of epicardium-derived cells have been analyzed. proepicardium presented by protrusions of lateral plate mesoderm (serosal mesothelium), located between the liver and venous sinus in avian, and in the region of septum transversum in mammalian; it contains three cell types and proepicardial extracellular matrix. The formation of epicardial layer is a result of the heart tube coating by proepicardium. Epicardial cells (except atrial region) undergo the process of epithelial-to-mesenchymal transformation, resulting in emergence of epicardium-derived cells. Last ones give rise to the next cell populations: smooth muscle cells, adventitial fibroblasts of coronary vessels, fibroblasts of heart fibrose skeleton, interstitial fibroblasts; differentiation of epicardium-derived cells into angio-, or hemangioblasts, cardiomyocytes stays controversial. Functional roles of these cells consist in their participation in processes of myocardial compactization, septation, formation of endocardial cushions in AV-canal, heart fibrose skeleton, changing the passive mechanical properties of the cardiac wall, looping, differentiation of Purkinje fibers. Future researches will be connected with the defining of species features, their molecular basis and investigation of embryonic potentials of mature cells, differentiated from epicardium-derived cells.

Key words: proepicardium, epicardium, epicardium-derived cells.

Створення, підтримання існування та відтворення тканин людини є основною метою тканинної інженерії (Lalan S. et al., 2001). Виходячи з цього, стає очевидним, що вивчення ембріонального розвитку органів – основне джерело інформації для експериментів по вирощуванню

тканин та органів in vitro. Основний принцип, що при цьому виконується, полягає в тому, щоб максимально точно відтворити (імітувати) процеси, вивірені природою протягом тисяч років (Mironov V. et al., 2003).

Новітні тривимірні моделі серця in vitro

складаються з трубчастої основи (колаген I типу), оптимізованої для підтримання росту ембріональної серцевої тканини (Nesbitt T.L. et al., 2007). Вони вже успішно використовуються для створення моделі розвитку коронарних судин *de novo* шляхом васкулогенезу. В тій же лабораторії було розроблено біореактор для підтримання току крові в трубчастій основі, що необхідно для клітинного поділу та росту. Ці розробки дозволяють найбільш точно відтворити умови розвитку ембріонального серця та з успіхом використовувати їх для експериментальних програм (Nesbitt T.L. et al., 2007).

Васкуляризація органів завжди привертала увагу дослідників різних областей науки. З точки зору тканинної інженерії, розвиток кровоносних судин *in vitro* важливий не лише через своє клінічне та хірургічне значення, але й тому, що правильна васкуляризація будь-якої інженерної тканини, або органу критична для його цілісності та

життєздатності, а також для формування правильної структури під час ембріогенезу (Mironov V. et al., 2003).

В процесі ембріонального розвитку більшість внутрішніх органів підлягають викриванню серозною оболонкою, яка розвивається з латеральної плоскої мезодерми. Оскільки серце само по собі є похідним спланхноплеври, воно потребує додаткового джерела для формування зовнішнього шару епітеліальної тканини. Таким є тимчасова ембріональна структура, що являє собою похідне серозної оболонки дна перикардіальної порожнини, розташовується між венозним синусом і печінкою у птахів та в регіоні поперечної перегородки у ссавців (рис. 1). Щодо найменування цієї структури існує багато різних думок, тому вважаємо за потрібне спочатку зупинитися на термінології та коротких історичних відомостях.

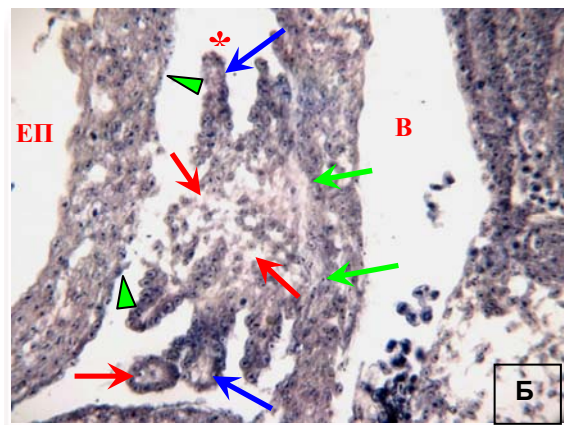


Рис. 1. Серце курячого зародка на 21 стадії за НН (Hamburger V., Hamilton H.L., 1951) (3,5 доба) в нормі. Забарвлення залізним гематоксиліном. А. $\times 100$. Проепікард (ПЕ) у птахів є вирослом вентральної стінки венозного синусу (ВС) та утворений відростками і везикулами, які на стадії НН 14 досягають внутрішньої кривизни серцевої трубки. При цьому зовнішній шар клітин ПЕ, розповсюджуючись по поверхні міокарду, утворює епікард; мезенхімні клітини проепікарду, а також проепікардіальний позаклітинний матрикс, переходять в субепікард. В результаті, ПЕ формує сполучення між ВС та серцевою трубкою, яке деякі автори називають «проепікардіальний орган», або «вторинний мезокардій» (див. текст). На зображеній стадії ендокардіальні подушки АВ-каналу (ЕП) ще не заселені мезенхімними клітинами. Звертає на себе увагу різниця між товщиною міокарду, вкритого епікардом (зелені голівки стрілок) та не вкритого (червоні голівки стрілок). Б. Є збільшенням виділеного фрагмента на А. $\times 400$. ПЕ розташовується в перикардіальній порожнині (*) та містить три типи клітин. Зеленими стрілками позначені декілька шарів епітелію, які відокремлюють ПЕ від венозного синусу; червоними стрілками позначено мезенхімні клітини всередині відростків ПЕ; синіми стрілками позначені зовнішні клітини одностарового кубічного епітелію. Ш - порожнина синусоцидів; ЕП- ендокардіальні подушки АВ-канала; ВС- венозний синус; зірочкою позначена перикардіальна порожнина.

Тривалий час вважалось, що епікард розвивається в результаті трансдиференціювання зовнішнього шару міокардіальних клітин серцевої трубки, в зв'язку з чим S.Mollie у 1906 році запропонував термін «епіміокард», або «міоепікард». Не зважаючи на наявність альтернативної точки зору (Т.Kurkiewicz ще в 1909 році передбачав екстракардіальне походження епікарду), до 1968 року ця гіпотеза не була спростована. З того часу, завдяки серії фундаментальних робіт (Manasek F.J., 1968; Viragh S., Challice C.E., 1973; Ho E., Shimada Y., 1978; Komiyama M. et al., 1987; Kuhn H.J., Liebherr G., 1988; Hiruma T., Hirakow

R., 1989), стало відомо, що епікард має позасерцеве походження. В 1993 році S.Viragh та співавтори вперше використали термін «проепікардіальний орган» для позначення тканинного містка, що поєднував попередник епікарду та примітивне серце (Viragh S. et al., 1993). В 1992 J.Männer та співавтори ту ж структуру визначили, як «вторинний мезокардій» (Männer J., 1992) (рис. 1). Обидва терміни, не дивлячись на їх некоректність (див. нижче), продовжують зустрічатись в літературі включно й дотепер. На думку більшості авторів, найбільш оптимальним є термін проепікардіальна серозна оболонка, точніше « прое-

пікард», якого ми і будемо дотримуватись в подальшому.

Отже, що собою являє проепікард з морфологічної точки зору? В своїй роботі P.Nahirney з колегами (2003) детально описали цю структуру. Розташовуючись вентрокаудально по відношенню до печінки (у птахів), проепікард являє собою ворсинчасті вирости ціломічного мезотелію, направлені до внутрішньої кривизни серця, які містять в собі мезенхімні клітини та «проепікардіальний позаклітинний матрикс» (рис. 1). Зовнішній вигляд структури нагадує кольорову капусту; в ній виділяють три типи клітин: ззовні – одношаровий кубічний епітелій; всередині – зірчасті мезенхімні клітини; та на межі з венозним синусом – 4-6 шарів кубічного епітелію (рис. 1). За допомогою електронної мікроскопії автори продемонстрували контакти по типу десмосом між мезенхімними та епітеліальними клітинами, та щільні контакти в зовнішньому шарі ПЕ. В ряді досліджень була ідентифікована нова адгезійна молекула - *Vves*, яка специфічно експресується в ПЕ, епікарді, мезенхімі, що з нього утворюється, гладких міоцитах (ГМ) (Wada A.M. et al., 2001). Доведено функціональне об'єднання клітин ПЕ за допомогою *connexin43*, компонента нексусів (Li W.E.I. et al., 2002). Слід зауважити, що в структурі ПЕ існує багато міжкласових та міжвидових відмінностей, але ми не будемо зупинятися на всіх подробицях та розглянемо лише найважливіші. Так як у птахів, так і у ссавців утворюються два зачатки ПЕ, але у птахів лівий рано зупиняється в розвитку, а зрілий ПЕ формується лише з правого виросту (Schulte I. et al., 1987; Schlueter J. et al., 2006). У ссавців обидва зачатки приймають рівне значення у формуванні ПЕ (Watanabe N. et al., 2006).

Особливу увагу та привід для суперечок привертає до себе спосіб стикування ПЕ з серцевою трубкою, котра в цей час підлягає третьому етапу петлеутворення (Lie-Venema H. et al., 2007). Раніше були запропоновані два альтернативні способи, один з яких полягав у безпосередньому контакті виростів ПЕ з малою кривизною серця та вважався характерним для птахів (Nahirney P. et al., 2003). Другий спосіб, котрий приписували в основному ссавцям, полягав у відбрунькуванні від ворсинчастих виступів ПЕ невеликих везикул, заповнених проепікардіальним позаклітинним матриксом та мезенхімними клітинами; вільне перепливання цих пухирців крізь перикардіальну порожнину; «прилипання» до поверхні міокарду з наступним злиттям між собою (Viragh S., Challice C.E., 1973). При цьому проепікардіальний позаклітинний матрикс автоматично стає субепікардіальним (рис. 1). Останні дослідження передбачають, що вищезазначені способи не є взаємовиключенням та, скоріш за все, співіснують у більшості видів, з можливою перевагою одного з них (Lie-Venema H. et al., 2007; Nesbitt T., 2007; Rodgers L.S. et al., 2008). Не дивлячись на це, протиставлення зазначених

механізмів трапляється навіть у відносно нових оглядових роботах, що свідчить про відсутність єдиної думки (Bernanke D.H., Velkey J., 2002; Машталір М.А. та співавт., 2003; Winter E.M., Gittenberger-de Groot A.C., 2007).

Слід зазначити, що лишається багато невідомого в механізмах, які контролюють направленість руху везикул та відростків ПЕ до малої кривизни. На це питання частково дає відповіді робота P.Nahirney (2003), в якій вчені за допомогою електронної мікроскопії описують мікроворсинки на поверхні епітеліальних клітин зовнішнього шару ПЕ. В свою чергу, між серцем та ПЕ вони спостерігали мікровезикули, заповнені гепарансульфатом та фібронектином. На їх думку, мікроворсинки, відриваючись, формують шлях, вкритий мікровезикулами, який використовується відростками ПЕ для направленої руху; його було названо: «позаклітинні матриксні містки, ПММ/ extracellular matrix bridge, ЕМВ». Для пояснення цього феномена існує також теорія «аспірації» везикул ПЕ при контакті з міокардом під час скорочень серця (Kuhn H.J., Liebherr G., 1988); важливим є також просторово-часові співставлення паттернів експресії ключових молекул адгезії ПЕ та міокарду – VEGF-1 та integrin $\alpha 4\beta 1$ і $\alpha 4\beta 7$ (Lie-Venema H. et al., 2005; Tomanek R.J., 2006). Не дивлячись на велику кількість досліджень, кінцевого розуміння даного процесу немає.

Структура, що утворюється при контакті ПЕ з міокардом, деякими авторами, як було згадано вище, була названа «проепікардіальний орган» та «вторинний мезокардій» (рис. 1). Тепер стає зрозумілим, що обидві назви відображають лише певний період існування ПЕ, тому не можуть використовуватись для визначення всієї структури в цілому. Окрім того, не дивлячись на різноманітний склад, структура ПЕ не достатньо складна, щоб назвати його органом, тому цей термін повинен вживатись в лапках (Bernanke D.H., Velkey J., 2002; Winter E.M., Gittenberger-de Groot A.C., 2007).

Отже, після встановлення контакту між везикулами та відростками ПЕ з внутрішньою кривизною, починається огортання серця епікардом, що відбувається приблизно однаково у багатьох видів: з дорсальної сторони АВ-борозни, продовжуючись вентрально, з обох боків довкола АВ-каналу, утворюючи манжетку, яка розповсюджується каудовентрально по шлуночковому сегменту (Lie-Venema H. et al., 2005). При цьому контакт з міокардом формують лише лідерні клітини епікардіального шару, інші ж контактують між собою та відокремлені від міокарду шаром гідратованого позаклітинного матриксу, ПМ, який заповнює субепікардіальний простір (Nahirney P. et al., 2003).

В останню чергу епікард вкриває передсердя та випускний тракт до межі його м'язової оболонки з мезенхімою (Lie-Venema H. et al., 2005). Зазначена границя не є сталою анатомічною від-

міткою та відповідає межі розповсюдження про-епікардіального епікарду лише не початку свого існування, з часом зміщуючись в проксимальному напрямку (Männer J., 1999; Pérez-Pomares J.M. et al., 2002; Машталір М.А., 2006). Слід зазначити, що епікард дистальної частини випускного тракту, ВТ, має непроепікардіальне походження (див. далі).

Ще під час контактування ПЕ з міокардом та утворення на поверхні серця «епікардіальних заплаток» (до завершення формування цілісного епікардіального шару), його клітини підлягають процесу епітеліо-мезенхімної трансформації, ЕМТ, який широко розповсюджений під час ембріонального розвитку, починаючи з самих ранніх процесів делямінації (Shook D., Keller R., 2003). В кардіогенезі ЕМТ відіграє велику роль при формуванні ЕП, диференціації нервового гребня. В епікарді найбільша активність ЕМТ відмічається в ділянках підвищеного вмісту ПМ – міжсегментних заглибленнях (напр. АВ-борозна); найменша - в дистальному регіоні ВТ (що пов'язано з його походженням, див. далі), та, що особливо цікаво, відсутність ЕМТ відзначається над передсердями (Lie-Venema H. et al., 2003; Pérez-Pomares J.M. et al., 2003; Lie-Venema H. et al., 2005).

В результаті ЕМТ в субепікардіальному просторі утворюються мезенхімні клітини – деривати епікарду (КДЕ) / eicardial-derived cells (EPDCs); термін було вперше запропоновано в 1998 році А.С. Gittenberger-de Groot (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 1998). Основні етапи існування цих клітин були сформульовані дещо пізніше, це: міграція клітин по поверхні міокарду; ЕМТ; інвазія кардіальної трубки; локальна диференціація в декілька клітинних типів; взаємодія з КМ (Poelmann R.E. et al., 2002). В порівнянні з ПЕ та епікардом, КДЕ є більш комітованими, але при цьому вони зберігають здатність до диференціювання в багатьох напрямках (Pérez-Pomares J.M. et al., 2002). В зв'язку з цим, деякі автори відносять їх до стовбурових клітин (Wessels A., Pérez-Pomares J.M., 2003). При цьому вони спираються на визначення стовбурової клітини C.S. Potten та M. Loeffler (1998): «стовбурові клітини можуть бути визначені, як відносно недиференційовані, проліферуючі клітини, які підтримують свою чисельність і в то же час продукують ряд диференційованих нащадків, які можуть продовжувати ділитись». КДЕ відповідають всім умовам цього визначення, отже можуть вважатися кардіальними стовбуровими клітинами.

Давно існує думка про додаткове джерело (окрім ЕМТ) мезенхімних клітин субепікардіального простору, одним з яких вважається ембріональна печінка та поперечна перегородка (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 2000). Деякі автори вважають, що клітини з цих регіонів, використовуючи тканинний місток – «вторинний мезокардій», проходять крізь нього транзитом в

субепікард (рис. 1). Ми зупинимось на цьому детальніше при обговоренні походження ендотеліальних клітин коронарних судин.

Досягаючи поверхні серця, КДЕ занурюються в його міокард, що є однією з ключових подій в кардіогенезі (Lie-Venema H. et al., 2005). Подальші ефекти КДЕ можна поділити на структурні та функціональні.

Говорячи про структурне значення КДЕ в розвитку серця, мають на увазі їх диференціювання в різні види клітин, що складають основу органа. Чисельні дослідження демонструють, що з КДЕ утворюються компоненти коронарних судин (ГМ, адвентиційні фібробласти (ФБ), ендотелій), інтерстиційні ФБ, ФБ фіброзно-еластичного скелету серця, можливо також гемангіобласти та КМ (Павлов Г.Г., 1991). Особливістю васкулогенезу серцевого м'яза в порівнянні з іншими органами є те, що джерелом майже усіх компонентів коронарних судин слугує його серозна оболонка - епікард (Guadix J.A. et al., 2006; Горелова Н.І., Сілкина Ю.В., 2004).

Навколо походження ендотелію коронарних судин до сих пір немає єдиної думки. На даний момент основна дискусія ведеться відносно того, чи являються ці клітини нащадками КДЕ (Muñoz-Chápuli R. et al., 2002; Pérez-Pomares J.M. et al., 2002; Tomanek R.J. et al., 2006a), або мігрують у серце ззовні (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 2000). Основними аргументами першого положення є чисельні дослідження по вирощуванню експлантних культур ПЕ in vitro, в яких, з часом, при впливі деяких факторів, з'являлись маркери ендотелію (Watanabe N. et al., 2006). В серії інших експериментів були створені химери курки та перепела, в яких ПЕ перепела пересажували ембріону курки. В результаті цього було продемонстровано, що джерелом ендотелію химерних сердець був ПЕ перепела (Männer J., 1999). Зрештою в роботі J.M.Perez-Pomares та співавторів (2002) з використанням трьох альтернативних методик було однозначно доведено, що КДЕ дають початок ендотелію коронарних судин. В якості одного з доказів вони використовували колокалізацію маркерів епікарду (CCFSE) та ендотелію (QH1). При цьому автори не заперечують можливості додаткової імміграції ангіобластів з позасерцевих джерел. Інші дослідники, використовуючи неповне заміщення ПЕ курки ПЕ перепела, показали, що під перепелиним епікардом виявляються лише перепелині мезенхімні клітини, а під курячим – лише курячі (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 1998). В експериментах з ретровірусною міткою були отримані ті ж результати (Poelmann R.E. et al., 2002). Ці дані в оглядовій роботі (Wessels A., Pérez-Pomares J.M., 2003) трактуються, як аргумент, що спростовує можливість міграції клітин ззовні до субепікардіального простору. Васкулогенний потенціал ПЕ також було проаналізовано в серії елегантних досліджень (Pérez-Pomares J.M. et al., 2004), в яких in vitro досягали злиття ПЕ та емб-

ріональної печінки. При цьому було показано, що васкуляризація печінки відбувалась за рахунок імміграції ангіобластів з ПЕ, що, проте, не може слугувати однозначним підтвердженням проходження цього явища *in vivo*. Схожі досліди по злиттю декількох ПЕ в культурі, підтверджують диференціювання мезотелію в ендотелій завдяки колокалізації відповідних маркерів (цитокератина, СК та ендотелію, QH-1) (Pérez-Pomares J.M. et al., 2006). При вирощуванні ПЕ, вилученого у миші на 9,5 добі ембріонального розвитку, на колагеновому гелі, через 6 днів в культурі спостерігалось утворення тяжів клітин, які були схожі на ембріональну судинну сітку (Watanabe N. et al., 2006).

В свою чергу в результаті паралельних досліджень, було зроблено висновок, що ПЕ перепела, імплантований курці без шматочка прилеглої печінки, не здатен васкуляризувати серце (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 2000). На думку авторів, просторова зближеність ПЕ та печінки, в котрій показано формування ангіобластів шляхом ЕМТ, передбачає їх міграцію через ПЕ в субепікард. Окрім того, вважають, що результати досліджень на химерах не зовсім вірні, оскільки пересажені експланти могли містити в собі клітини, які іммігрували в них до початку експерименту і не є похідними власне ПЕ (Winter E.M., Gittenberger-de Groot A.C., 2007). Також в своїх дослідженнях вони продемонстрували накопичення ендотеліальної мітки в ПЕ спочатку лише в основі і лише через декілька годин у відростках ПЕ. На додачу підлягає сумніву факт специфічності маркерів, що були використані для мічення епікарду. Основою для цього є експресія тих самих маркерів (RALDH2, WT1) у дорсальній мезодермі (Yanai M. et al., 2005). Деякі роботи, виконані на мишах, заперечують внесок КДЕ в популяцію ендотелію коронарних судин (Merki E. et al., 2005).

Швидше за все відсутність єдиної думки з приводу цього питання пов'язані з видовими особливостями походження ендотелію, а також із співіснуванням обох механізмів (Sedmera D., Watanabe M., 2006). Так, в деяких роботах (Pérez-Pomares J.M. et al., 2004) обговорюється подвійне походження ендотелію коронарних вен у химер.

Походження ГМ не викликає подібних сумнівів (Hirschi K.K., Majesky M.W., 2003). Маркери цих клітин виявляють навіть в ПЕ, що свідчить про раннє комітування цього клітинного типу (Mikawa T., Gourdie R.G., 1996). Цікавою є послідовність заселення міокарду ГМ та ендотелієм. Досліджено, що перші КДЕ після занурення в міокард, диференціюються в ендотеліальні клітини (під впливом VEGF, який виробляється міокардом), останні, в свою чергу, виробляють фактори, що сприяють диференціюванню наступних клітин в ГМ (PDGF) (Lavine J. et al., 2006). При цьому стало відомо, що клітини ПЕ та епікарду експресують одночасно рецептори до PDGF та VEGF (Guadix J.A. et al., 2006), в зв'язку

з чим на даний момент прийнята концепція біпотенційних васкулярних попередників (Pérez-Pomares J.M. et al., 2002). Спочатку розподілення цих двох клітинних популяцій в міокарді відбувається не узгоджено. В подальшому ендотеліальні клітини залучаються до процесу васкулогенезу з утворенням сітки всередині міокарду, просвіти якої сполучаються з міжтрабекулярними просторами шлуночків (Männer J., 1999). Пізніше після моменту сполучення цієї сітки з основою аорти (НН34), навколо ендотеліальних тяжів починають ідентифікуватись ГМ (Mikawa T., Gourdie R.G., 1996; Chang T.-C. et al., 2002; Egalp I. et al., 2005). Це пов'язують з тим, що ГМ реагують не лише на фактори, які виробляються ендотелієм, але й на появу «току крові» в коронарному руслі (Vrancken Peeters M. P. et al., 1999; Zamoga M. et al., 2007). Акумуляція ГМ навколо ендотеліальних каналів відбувається в проксимально-дистальному напрямку та відрізняється в артерій та вен: у химер лише дистальні частини вен мали походження донора, проксимальна ж частина була сформована за рахунок реципієнта (Mikawa T., Gourdie R.G., 1996; Männer J., 1999; Pérez-Pomares J.M. et al., 2002).

Третім компонентом коронарних судин є періартеріальні фіброласти (Шехтер А.Б., Берченко Г.Н., 1975). Слід зазначити, що ПЕ є не єдиним джерелом цих клітин. Їх більше в складі стінок вен, ніж артерій (Pérez-Pomares J.M. et al., 2002). Також, як і ГМ, ФБ акумулюються навколо судин після їх з'єднанням з аортою; цей процес орієнтовано в проксимально-дистальному напрямку (Dettman R.W. et al., 1998; Männer J., 1999).

Інша популяція ФБ, що походить з ПЕ, мігрує крізь міокард та виявляється в субендокарді (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 1998; Männer J., 1999). По завершенню формування ЕП, КДЕ виявляються також у складі їх мезенхіми, де вони займають два основних положення: безпосередньо під ендокардом та на межі міокарду з мезенхімою ЕП (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 1998). Субендокардіальна популяція практично не відіграє ролі у формуванні структури ЕП, про її функціональне значення мова йтиме пізніше.

Відносно тієї популяції КДЕ, яка знаходиться між міокардом та ЕП, було продемонстровано співпадіння її появи з експресією проколагену I типу, таким чином, дійшли висновку про велике значення КДЕ у формуванні фіброзного скелету серця (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 1998). В останній час вважають, що ця роль КДЕ не настільки значна і потребує уточнення (Lie-Venema H. et al., 2005).

Ті ж КДЕ, які при міграції не досягають субендокарду та не включаються в склад коронарних судин, залишаються в товщі міокарду та складають популяцію інтерстиційних ФБ серця (Dettman R.W. et al., 1998; Winter E.M., Gittenberger-de Groot A.C., 2007).

Нещодавно вчені виконали ряд досліджень,

в яких продемонстрували узгоджене розподілення та заселення міокарду CD45 (маркер гематогенних клітин) та QH-1 (маркер ендотелію) позитивними клітинами. (Kattan J. et al., 2004). В субепікардіальному просторі спостерігали острівці кровотривення, які склалися з клітин крові, оточених ендотелієм; попередниками обох клітинних типів вважали епікард (Viragh S. et al., 1990; Wilting J. et al., 2007). Таким чином, було зроблено висновок не лише стосовно васкулогенного, але й відносно гематогенного потенціалу ембріонального епікарду (Bernanke D.H., Velkey J., 2002).

Цікаво, що ця думка, як і багато інших, підлягає сумнівам. Основними аргументами критики є результати альтернативних досліджень, в яких було показано, що еритроцити, які спостерігаються в аваскулярному ембріональному серці, походять з системного кровотоку: потрапляють в міокард шляхом діapedезу з боку ендокарду (рис. 2). В подальшому мігруючи крізь міокард (котрий складає декілька клітин в товщину), вони швидко досягають субепікарду. Вважається, що на шляху до субепікарду, вони встановлюють контакт з ангиобластами та формують кров'яні острівці. На підтвердження своїх думок автори акцентують увагу на тому, що часто спостерігали еритробласти без асоціації з ангиобластами/ендотелієм (рис. 2). При цьому, ніколи не спостерігались початкові стадії гематопоезу (Ratajska A., 2006). Висновки в роботі з використанням маркерів CD45 та QH-1 також вказують, що гематопоез асоційований з формуванням кров'яних острівців (розповсюдження CD45+ та QH-1+ відбувалось узгоджено), але експресія маркерів гематопоезу передують формуванню острівців (Kattan J. et al., 2004). Дані інших авторів, які спостерігали еритробласти в субепікарді та МШП, не зовсім відповідають реальній ситуації, так як в цьому експерименті була штучно знижена концентрація VEGF (Tomanek R.J. et al., 2006b). Окрім того, в тих же дослідженнях також не було продемонстровано ранніх стадій диференціювання еритробластів. Базуючись на вищенаведених фактах, A. Ratajska (2006) заперечує гематопоетичні властивості ембріонального серця, принаймні у ссавців (у птахів необхідні додаткові дослідження, через те, що їх еритробласти морфологічно не відрізняються від еритроцитів та містять ядра).

Цікаво, що на стадії 5 сомітів ангиобласти курки сегрегують від спланхнічної мезодерми шляхом ЕМТ, що співпадає з початком формування основних внутрішніх органів (печінка, легені і т.п.) (Poole et al., 2001). Вважають, що фактори, які сприяють ЕМТ та диференціюванню мезенхімних клітин в ендотелій, виділяються зачатками органів. Таким чином, васкуляризацію пов'язують з імміграцією ангиобластів, утворених з мезотелію очеревини. Останні ж роботи демонструють, що ембріональний мезотелій очеревини зберігає васкуло- та гематогенний потен-

ціал і на більш пізніх етапах розвитку (Munoz-Chahuli R. et al., 1999). Окрім епікарду (похідне очеревинного мезотелію), подібна здатність продемонстрована для мезотелію печінки (Pérez-Pomares J.M. et al., 2004).

Окрім вищезгаданих клітинних популяцій, було висунуто припущення про походження КМ з епікарду. В серії елегантних досліджень *in vitro* було показано, що в культурі експланта ПЕ під впливом певних факторів виявлялись КМ, які поступово диференціювались (Schlueter J. et al., 2006; Kruihof B.P.T. et al., 2006). При проведенні інших досліджень з КДЕ подібної диференціації не спостерігалось, що свідчить про втрату подібних потенцій з часом (Pérez-Pomares J.M. et al., 2002). Для уточнення цього заключення була проведена робота по створенню химер, яка не виявила *in vivo* донорської мітки навіть в КМ субепікарду, дорсального мезокардія, додаткових провідникових АВ-шляхах (Männer J., 1999).

Окрім структурної, КДЕ виконують багато функціональних ролей. Давно було помічено, що після їх занурення в міокард, останній починає активно потовщуватись за рахунок клітинної проліферації (Шляховер В.Е., 1983; Федосеев В.А., 1992; Gittenberger-de Groot A.C. et al., 2000; Chen T.H.-P. et al., 2002; Nelson T.J. et al., 2004; Jenkins S.J. et al., 2005; Männer J. et al., 2005). Наслідком цього процесу є формування компактного шару, який в подальшому стає більш контрастним у відношенні скорочень серця в порівнянні з трабекулярним (Козлов В.О., 2003; Merki E. et al., 2005) (рис. 1). Тривалі дослідження показали, що в основі цього ефекту лежить продукція КДЕ ретиноєвої кислоти, яка впливає на власні рецептори, локалізовані на тих самих клітинах (Xavier-Neto J. et al., 2000; Chen T.H.-P. et al., 2002;). Результатом цього аутокринного впливу є вироблення КДЕ певного трофічного фактору, котрий на сьогоднішній день не до кінця ідентифікований, хоча є певні свідчення про компоненти його сигнального шляху (Kang J.-O., Sucov H.M., 2005). Вищезгаданий фактор, в свою чергу, впливає на КМ, результатом чого є їх проліферація та компактизація міокарду (рис. 1).

На даний момент дискусійною є роль КДЕ в регуляції формування ЕП АВ-каналу (рис. 2). Виявилось, що міокард АВ-каналу більш щільний, ніж в шлуночках та передсердях, що заважає безпосередньому проникненню КДЕ з субепікарду в субендокард. ЕМТ, навпаки, активно відбувається в ендокарді АВ-каналу та не спостерігається в шлуночках та передсердях (рис. 2). В перших роботах на цю тему, співставляючи просторово-часові характеристики ЕМТ в подушках та паттерна розподілення КДЕ, робили висновок про інгібуючий вплив КДЕ на ЕМТ. Цей висновок підкріплюють дослідження, проведені на курках, в яких, після видалення ПЕ, АВ-подушки ставали гіпертрофовані та гіперклітинні (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 1998). В подальшому виявилось, що проведення аналогі-

чних досліджень дало протилежний результат: спостерігалась гіпоплазія ЕП та зниження інтенсивності ЕМТ (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 2000). В деяких експериментах з маніпуляцією ПЕ розвиток подушок взагалі не було порушено (Männer J. et al., 2005). Останні думки з цього приводу полягають в наявності видових особливостей впливу КДЕ на ЕМТ та формування подушок в цілому (у курок видалення ПЕ призво-

дить до гіперклітинності ЕП, а у перепелів – навпаки, до гіпоплазії), кінцева відповідь на це питання потребує подальших досліджень (Козлов В.О. та співавт., 2002; Машталир М.А., 2005; Sedmera D., Watanabe M., 2006). Цікаво, що КДЕ практично не виявляються в півмісяцевих клапанах, відповідно вони не впливають на ЕМТ, яка відбувається в гребнях тракту відтоку (Männer J., 1999; Nakamura T. et al., 2006).

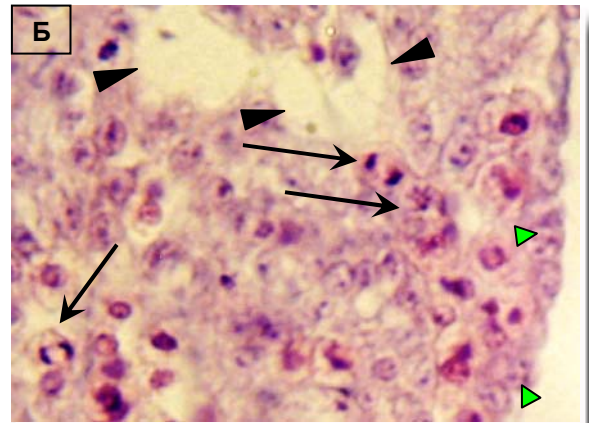
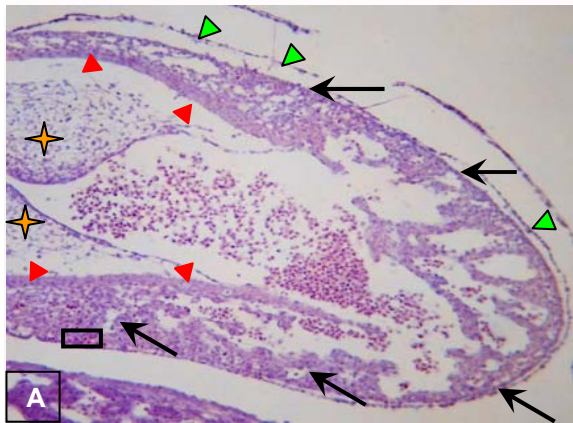


Рис. 2. Серце щура на 11 добі ембріонального розвитку в нормі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А. $\times 100$. Ділянка лівого шлуночка та АВ-каналу з ендокардіальними подушками (ЕП, позначені зірочками), які вже значно заселені мезенхімними клітинами. Зелені голівки стрілок вказують на шар епікарду, який відокремлений від міокарду субепікардіальним простором. Червоними голівками стрілок позначено більш щільний, у порівнянні з міокардом шлуночків, міокард АВ-каналу, який, на думку певних авторів, деякий час перешкоджає імміграції клітин-дериватів епікарду в ЕП. Стрілками позначені ділянки, з найменшою відстанню між субепікардіальним та субендокардіальним просторами, що передбачає можливість сполучення та проникнення клітин крові в субепікард (виділений фрагмент). Б. Є збільшенням виділеного фрагмента на А.. $\times 600$. Клітини крові, які знаходяться в субепікарді, скоріш за все, потрапляють сюди із загального кровотоку та слугують центром кровотворення в ембріональному серці. Голівками стрілок (чорними) позначено простір в міокарді, який може слугувати шляхом для проникнення еритробластів з порожнини серця в субепікард. На меншому збільшенні (А.) на цей простір вказує перша стрілка в нижньому ряді. Відсутність ендотелію навколо клітин, що перебувають у процесі поділу, свідчить про те, що кровотворні острівці ще не сформувались. Стрілками позначені фігури мітозу в еритробластах. Зелені голівки стрілок вказують на шар клітин епікарду.

Для виявлення функціонального значення дериватів ПЕ було проведено серії робіт з використанням техніки видалення ПЕ, яка багаторазово вдосконалювалась (Gittenberger-de Groot A.C. et al., 1998; Männer J., 1999; Gittenberger-de Groot A.C. et al., 2000). Поки що найбільш оптимальним вважається т.н. «фотоабляція» ПЕ, при якій в перикардіальний цілом вводиться фотосенсибілізатор, потім, з допомогою видимого світла, проводиться його фотоактивація через віконце в яйцевій шкаралупі (Männer J. et al., 2005). Ця методика призводить до найбільш тривалого запобігання розвитку компенсаторного епікарду (див. далі) без значних побічних пошкоджень. Результати цих робіт свідчать про значний вплив КДЕ на розвиток МШП. Формування подвійного впускного тракту лівого та подвійного випускного тракту правого шлуночків при відсутності ПЕ спостерігалось лише у перепелів, що свідчить про наявність видових особливостей у цьому відношенні (Männer J. et al., 2005).

При використанні методики фотоабляції було винайдено два нових ефекти відсутності епікарду: гемоперикард та формування аневризмоподібних випинань міокарду, що не вкритий епі-

кардом. На особливу увагу заслуговує останній. Автори пояснюють його слабкістю тонкостінного міокарду та, що особливо важливо, відсутністю пасивного стримуючого ефекту субепікардіальної мезенхіми/сполучної тканини. Заключенням цього спостереження є те, що епікард не лише виробляє трофічні фактори для міокарду, але й значно впливає на його пасивну механіку, що раніше не розглядалось (Männer J. et al., 2005).

Також порівняно нещодавно було помічено співпадіння в часі початку формування епікарду та завершення петлеутворення серця. Окрім того, в експериментах по видаленню проепікарду спостерігається уширення малої кривизни та інші ознаки порушення цього процесу (Lie-Venema H. et al., 2005; Lie-Venema H. et al., 2007). Дане припущення заслуговує додаткових досліджень з метою виявлення молекулярних основ цього феномена.

Відносно багато робіт було зроблено в напрямку вивчення взаємовідносин КДЕ та формування волокон Пуркінє. Продемонстровано співпадіння локалізації субендокардіальної популяції КДЕ з диференціюванням волокон Пуркінє, яке відбувалось в безпосередньому набли-

женні до коронарних судин одразу після їх перфузії (Hyer J. et al., 1999).

Одним з цікавих, хоча і небажаних, спостережень в багатьох експериментах по видаленню ПЕ (в т.ч. і при фотоабляції), є формування «вторинних тканинних містків, «компенсаторного епікарду», на чому слід зупинитися більш детально (Männer J., 1999; Gittenberger-de Groot A.C. et al., 2000). Багато вчених, при описанні ПЕ виявляли на стінках целому схожі на нього вирости, які, проте, ніколи не досягали розмірів істинного ПЕ (Männer J., 1999; Nahirney P. et al., 2003). Їх значення не було з'ясовано до 2003 року, коли продемонстрували, що саме ці утворення, названі «перикардальні проліферати», та є джерелом компенсаторного епікарду, який так затруднює експерименти по тривалому пригніченню функцій ПЕ (Pérez-Pomares J.M. et al., 2003). Пояснення їх призначення пов'язано з тим, що дистальна частина випускного тракту (межа поділу – дистальна межа гребенів ВТ) має епікард непроєктикардального походження; його джерелом є похідні цефалічного целомічного/перикардального епітелію основи аортального мішка - перикардальні проліферати. При цьому епікард дистальної частини ВТ відрізняється від іншого не лише за походженням, але також за морфологією (кубічний епітелій, в той час, як інший епікард - плоский), експресії специфічних маркерів (слабша експресія RALDH2), активності ЕМТ (значно знижена) (Pérez-Pomares J.M. et al., 2003; Lie-Venema H. et al., 2007).

На завершення слід сказати, що проведено також багато досліджень для уточнення збереження вищеперахованих ефектів та потенцій КДЕ у зрілих клітин, які з них утворилися. В роботах з дефінітивним міокардом було показано, що його чутливість до трофічних сигналів епікарду знижується в пренатальному періоді, а протягом перших 3-х діб після народження повністю зникає (Chen T.H.-P. et al., 2002). Багато статей описують експерименти з мезотеліомами, які експресують маркери епікарду. In vitro, при додаванні деяких факторів росту, в них досягали проходження ЕМТ та диференціювання мезенхімних клітин в ГМ (Wada A.M. et al., 2003). В тій же роботі не змогли досягти утворення ендотеліальних клітин з дефінітивного епікарду, що пов'язують не з втратою відповідних потенцій, а з відсутністю необхідних для цього молекулярних факторів. Розробки в цьому напрямку активно продовжуються, їх кінцевою метою є пересадка органів та тканин без розвитку реакції відтогнення.

Як формування епікарду, так і його роль у розвитку серця є надзвичайно унікальними процесами, в яких багато ще лишається загадкою. Подальші дослідження та аналіз даних необхідні для виявлення видових особливостей цих явищ. В даній роботі ми не зупинилися на молекулярних основах міжклітинних взаємодій та взаємоперетворень, оскільки вони заслуговують на окремих розгляд.

Літературні джерела

Горелова Н.І., Сілкина Ю.В. Гістогенетичні процеси в ранньому кардіогенезі людини // Вісник проблем біології медицини.- 2004.- № 4.- С.78-84.

Козлов В.О., Шаторна В.Ф., Машталір М.А. Формування лівого передсердно-шлуночкового клапана серця в ембріогенезі курей // Актуальні питання морфології: Наукові праці III нац. конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України.- Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.- С.146.

Козлов В.О., Шаторна В.Ф., Машталір М.А. Формування папілярно-трабекулярного апарату серця в ембріогенезі курей // Український морфологічний альманах.- 2003.- Т.1, № 2.- С.39-41.

Машталір М.А. Апоптози в ембріональному серце // Вісник проблем біології і медицини.- 2005.- № 3.- С. 131-135.

Машталір М.А. Формування конусостовбурового відділу серця у мишачих та курячих зародків під впливом ретиноевої кислоти // Медичні перспективи. 2006.- Т. №1.- С.8-12.

Машталір М.А., Твердохліб І.В., Шаторна В.Ф. Формування епікарду курячого зародка в нормі і при порушенні кардіогенезу дією етанолу

// Медичні перспективи.- Дніпропетровськ, 2003.- Т.8, № 1.- С.43-46.

Павлов Г.Г. Стромальні компоненти серця: развитие, структурные и функциональные особенности // Онтогенез.- 1991.- № 6.- С. 575-590.

Федосеев В.А., Лошакина Е.Б., Ионина И.А. Морфологические показатели различных слоев миокарду крыс в ранние сроки становления гипертрофии миокарду // Бюлл. экспер. биол.- 1992.- № 2.- С. 210-211.

Шляховер В.Е., Яблучанский Н.И., Шевченко В.И. Количественная характеристика структурной организации миокарду собаки // Кровообращение.- 1983.- № 2.- С. 3-6.

Шехтер А.Б., Берченко Г.Н. Фибробласты и развитие соединительной ткани: ультраструктурные основы биосинтеза, фибриллогенеза, катоболизма коллагена // Арх. патол.- 1975.- № 3.- С. 13-19.

A 3-D model of coronary vessel development / T.L.Nesbitt, P.A.Patel, M.J.Yost et al. // In Vitro Cell. Dev. Biol.- Animal.- 2007.- Vol.43.- P.10-16.

An essential role for connexin43 gap junctions in mouse coronary artery development / W.E.I.Li, K.Waldo, K.L.Linask et al. // Development.- 2002.-

Vol.129.- P.2031-2042.

Analysis of gene expression patterns in the developing chick liver / M.Yanai, N.Tatsumi, F.Endo et al. // *Dev. Dyn.*- 2005.- Vol.233.- P.1116-1122.

Analysis of the proepicardium-epicardium transition during the malformation of the RXR α -epicardium / S.J.Jenkins, D.R.Hutson, S.W.Kubalak et al. // *Developmental Dynamics.*- 2005.- Vol.233.- P.1091-1101.

Angiogenesis and hematopoiesis in the epicardium of the vertebrate embryo / S.Viragh, D.E.Bockman, M.L.Kirby et al. // *New York Academy of Sciences.*- 1990.- Vol.588.- P.455-458.

Bernanke D.H., Velkey J. Development of the coronary blood supply: Changing concepts and current ideas // *Anat. Rec.*- 2002.- Vol.269.- P.198-208.

BMP and FGF regulate the differentiation of multipotential pericardial mesoderm into the myocardial or epicardial lineage / B.P.T.Kruihof, B.van Wijk, S.Somi et al. // *Developmental Biology.*- 2006.- Vol.295.- P.507-522.

Cellular Precursors of the Coronary Arteries / R.Munoz-Chahuli, M.González-Iriarte, R.Carmona et al. // *Tex. Heart. Inst. J.*- 2002.- Vol.29, №4.- P.243-249.

Common Epicardial Origin of Coronary Vascular Smooth Muscle, Perivascular Fibroblasts, and Intermycardial Fibroblasts in the Avian Heart // R.W.Dettman, W.Denetclaw, C.P.Ordahl, J.Bristow // *Dev. Biol.*- 1998.- Vol.193.- P.169-181.

Contribution of mesothelium-derived cells to liver sinusoids in avian embryos / J.M.Pérez-Pomares, R.Carmona, M.González-Iriarte et al. // *Developmental Dynamics.*- 2004.- Vol.229.- P.465-474.

Coronary Artery and Orifice Development Is Associated With Proper Timing of Epicardial Outgrowth and Correlated Fas Ligand Associated Apoptosis Patterns / I.Eralp, H.Lie-Venema, M.C.DeRuiter, et al. // *Circulation Research.*- 2005.- Vol.96.- P.526-534.

Cysteine-Rich LIM-Only Proteins CRP1 and CRP2 Are Potent Smooth Muscle Differentiation Cofactors / D.F.Chang, N.S.Belaguli, D.Iyer et al. // *Developmental cell.*- 2003.- Vol.4.- P.107-118.

Differential growth and multicellular villi direct proepicardial translocation to the developing mouse heart / L.S.Rodgers, S.Lalani, R.B.Runyan, D.Todd // *Developmental Dynamics.*- 2008.- Vol.237.- P.145-152.

Differentiation of hemangioblasts from embryonic mesothelial cells. A model on the origin of the vertebrate cardiovascular system / R.Munoz-Chahuli, J.M.Perez-Pomares, D.Macias et al. // *Differentiation.*- 1999.- Vol.64.- P.133-141.

Early development of quail heart epicardium and associated vascular and glandular structures / S.Viragh, A.C.Gittenberger-de Groot, R.E.Poelmann et al. // *Anat. Embryol. (Berl.)*- 1993.- Vol.188.- P.381-393.

Epicardial Induction of Fetal Cardiomyocyte Proliferation via a Retinoic Acid-Inducible Trophic

Factor / T.H.-P.Chen, T.-C.Chang, J.-O.Kang et al. // *Developmental Biology.*- 2002.- Vol.250.- P.198-207.

Epicardial Outgrowth Inhibition Leads to Compensatory Mesothelial Outflow Tract Collar and Abnormal Cardiac Septation and Coronary Formation / A.C.Gittenberger-de Groot, M.-P.F.M.Vrancken Peeters, M.Bergwerff et al. // *Circ. Res.*- 2000.- Vol.87.- P.969-971.

Epicardial retinoid X receptor alpha is required for myocardial growth and coronary artery formation / E.Merki, M.Zamora, A.Raya et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*- 2005.- Vol.102.- P.18455-18460.

Epicardial/Mesothelial Cell Line Retains Vasculogenic Potential of Embryonic Epicardium / A.M.Wada, T.K.Smith, M.E.Osler et al. // *Circulation Research.*- 2003.- Vol.92.- P.525.

Epicardial-like cells on the distal arterial end of the cardiac outflow tract do not derive from the proepicardium but are derivatives of the cephalic pericardium / J.M.Pérez-Pomares, A.Phelps, M.Sedmerova, A.Wessels // *Developmental Dynamics.*- 2003.- Vol.227.- P.56-68.

Epicardium-Derived Cells Contribute a Novel Population to the Myocardial Wall and the Atrioventricular Cushions / A.C.Gittenberger-de Groot, M.P.F.M.Vrancken Peeters, M.M.T.Mentink et al. // *Circulation Research.*- 1998.- Vol.82.- P.1043-1052.

Ets-1 and Ets-2 Transcription Factors Are Essential for Normal Coronary and Myocardial Development in Chicken Embryos / H.Lie-Venema, A.C.Gittenberger-de Groot, L.J.P.van Empel et al. // *Circulation Research.*- 2003.- Vol.92.- P.749.

Experimental Studies on the Spatiotemporal Expression of WT1 and RALDH2 in the Embryonic Avian Heart: A Model for the Regulation of Myocardial and Valvuloseptal Development by Epicardially Derived Cells (EPDCs) / J.M.Pérez-Pomares, A.Phelps, M.Sedmerova et al. // *Developmental Biology.*- 2002.- Vol.247.- P.307-326.

Expression patterns of Tgfb β 1-3 associate with myocardialisation of the outflow tract and the development of the epicardium and the fibrous heart skeleton / D.G.M.Molin, U.Bartram, K.Van der Heiden et al. // *Developmental Dynamics.*- 2003.- Vol.227.- P.431-444.

Fibroblast growth factor signals regulate a wave of Hedgehog activation that is essential for coronary vascular development / J.Lavine, C.Andrew, P.Changwon et al. // *Genes and development.*- 2006.- Vol.20.- P.1651-1666.

Hamburger V., Hamilton H.L. A series of normal stages in the development of the chick embryo // *J. Morphol.*- 1951.- Vol.88.- P.49-92.

Hirschi K.K., Majesky M.W. Smooth muscle stem cells // *Anat. Rec.*- 2003.- Vol.276A.- P.22-33.

Hiruma T., Hirakow R. Epicardial formation in embryonic chick heart: computer-aided reconstruction, scanning, and transmission electron microscopic studies // *Am. J. Anat.*- 1989.- Vol.184.-

P.129–138.

Ho E., Shimada Y. Formation of the epicardium studied with the scanning electron microscope // *Dev. Biol.*- 1978.- Vol.66.- P.579–585.

In vitro model for mouse coronary vasculogenesis / N.Watanabe, M.Nakagawa, T.Hanato et al. // *Anat. Rec.*- 2006.- Vol.288A.- P.714-722.

In vitro self-assembly of proepicardial cell aggregates: An embryonic vasculogenic model for vascular tissue engineering / J.M.Pérez-Pomares, V.Mironov, J.A.Guadix et al. // *Anat. Rec.*- 2006.- Vol.288A.- P.700-713.

In vivo and in vitro analysis of the vasculogenic potential of avian proepicardial and epicardial cells / J.A.Guadix, R.Carmona, R.Muñoz-Chápuli, J.M.Pérez-Pomares // *Developmental Dynamics.*- 2006.- Vol.235.- P.1014-1026.

Induction of Purkinje fiber differentiation by coronary arterialization / J.Hyer, M.Johansen, A.Prasad et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*- 1999.- Vol.96.- P.13214–13218.

Kang J.-O., Sucov H.M. Convergent proliferative response and divergent morphogenic pathways induced by epicardial and endocardial signaling in fetal heart development // *Mechanisms of Development.*- 2005.- Vol.122.- P.57-65.

Kattan J., Dettman R.W., Bristow J. Formation and remodeling of the coronary vascular bed in the embryonic avian heart // *Developmental Dynamics.*- 2004.- Vol.230.- P.34-43.

Komiyama M., Ito K., Shimada Y. Origin and development of the epicardium in the mouse embryo // *Anat. Embryol.*- 1987.- Vol.176.- P.183–189.

Kuhn H.J., Liebherr G. The early development of the epicardium in *Tupaia belangeri* // *Anat. Embryol.*- 1988.- Vol.177.- P.225–234.

Lalan S., Pomerantseva I., Vacanti J.P. Tissue engineering and its potential impact on surgery // *World J. Surg.*- 2001.- Vol.25.- P.1458-1466.

Lin S., Zhao D., Bownes M. Blood vessel/epicardial substance (bvcs) expression, essential for embryonic development, is down regulated by Grk/EFGR signalling // *Int. J. Dev. Biol.*- 2007.- Vol.51.- P.37-44.

Manasek F.J. Embryonic development of the heart. A light and electron microscopic study of myocardial development in the early chick embryo // *J. Morphol.*- 1968.- Vol.125.- P.329–365.

Männer J. Does the Subepicardial Mesenchyme Contribute Myocardioblasts to the Myocardium of the Chick Embryo Heart? A Quail-Chick Chimera Study Tracing the Fate of the Epicardial Primordium // *Anat. Rec.*- 1999.- Vol.255.- P.212–226.

Männer J. The development of pericardial villi in the chick embryo // *Anat. Embryol. (Berl.)*- 1992.- Vol.186.- P.379–385.

Männer J., Schlueter J., Brand T. Experimental analyses of the function of the proepicardium using a new microsurgical procedure to induce loss-of-proepicardial-function in chick embryos // *Developmental Dynamics.*- 2005.- Vol.233.- P.1454-1463.

Mikawa T., Gourdie R.G. Pericardial Meso-

derm Generates a Population of Coronary Smooth Muscle Cells Migrating into the Heart along with Ingrowth of the Epicardial Organ // *Dev. Biol.*- 1996.- Vol.174.- P.221–232.

Morphological and molecular left-right asymmetries in the development of the proepicardium: A comparative analysis on mouse and chick embryos / I.Schulte, J.Schlueter, R.Abu-Issa et al. // *Anat. Embryol. (Berl.)*- 1987.- Vol.176, №2.- P.9-183.

Myocardial heterogeneity in permissiveness for epicardium-derived cells and endothelial precursor cells along the developing heart tube at the onset of coronary vascularization / H.Lie-Venema, I.Eralp, S.Maas et al. // *Anat. Rec.*- 2005.- Vol.282A.- P.120-129.

Nahirney P.C., Mikawa T., Fischman D.A. Evidence for an extracellular matrix bridge guiding proepicardial cell migration to the myocardium of chick embryos // *Developmental Dynamics.*- 2003.- Vol.227.- P.511-523.

Nakamura T., Colbert M.C., Robbins J. Neural crest cells retain multipotential characteristics in the developing valves and label the cardiac conduction system // *Circ. Res.*- 2006.- Vol.98.- P.1547–1554.

Nelson T.J., Duncan S.A., Misra R.P. Conserved Enhancer in the Serum Response Factor Promoter Controls Expression During Early Coronary Vasculogenesis // *Circulation Research.*- 2004.- Vol.94.- P.1059.

Organ printing: computer-aided jet-based 3D tissue engineering / V.Mironov, T.Boland, T.Trusk et al. // *Trends Biotechnol.*- 2003.- Vol.21.- P.157-161.

Origin of coronary endothelial cells from epicardial mesothelium in avian embryos / J.M. Pérez-Pomares, R.Carmona, M.Gonzales-Iriarte et al. // *Int. J. Dev. Biol.*- 2002.- Vol.46.- P.1005-1013.

Origin, Fate, and Function of Epicardium-Derived Cells (EPCDs) in Normal and Abnormal Cardiac Development / H.Lie-Venema, N.M.S.van den Akker, N.A.M.Bax et al. // *Scientific World J.*- 2007.- Vol.7.- P.1777–1798.

Poelmann R.E., Lie-Venema H., Gittenberger-de Groot A.C. The Role of the Epicardium and Neural Crest as Extracardiac Contributors to Coronary Vascular Development // *Tex. Heart. Inst. J.*- 2002.- Vol.29, №4.- P.255–261.

Potten C.S., Loeffler M. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons from and for the crypt // *Development.*- 1990.- Vol.110.- P.1001-1020.

Ratajska A. Is the Fetal Heart a Hematopoietic Organ // *Circulation Research.*- 2006.- Vol.98.- P.72.

Schlueter J., Männer J., Brand T. BMP is an important regulator of proepicardial identity in the chick embryo // *Developmental Biology.*- 2006.- Vol.295.- P.546-558.

Sedmera D., Watanabe M. Growing the coronary tree: The quail saga // *Anat. Rec.*- 2006.- Vol.288A.- P.933-935.

Sequential Programs of Retinoic Acid Synthe-

sis in the Myocardial and Epicardial Layers of the Developing Avian Heart / J.Xavier-Neto, M.D.Shapiro, L.Houghton, N.Rosenthal // *Developmental Biology*.- 2000.- Vol.219.- P.129–141.

Shook D., Keller R. Mechanisms, mechanics and function of epithelial–mesenchymal transitions in early development // *Mechanisms of Development*.- 2003.- Vol.120.- P.1351–1383.

Smooth muscle cells and fibroblasts of the coronary arteries derive from epithelial-mesenchymal transformation of the epicardium / M.P.Vrancken Peeters, A.C.Gittenberger-de Groot, M.M.Mentink et al. // *Anat. Embryol. (Berl)*.- 1999.- Vol.199.- P.367–378.

The Epicardium and Epicardial-Derived Cells: Multiple Functions in Cardiac Development / R.Muñoz-Chápulia, D.Maciása, M.González-Iriarte et al. // *Rev. Esp. Cardiol*.- 2002.- Vol.55.- P.1070 – 1082.

The proepicardium delivers hemangioblasts but not lymphangioblasts to the developing heart / J.Wilting, K.Buttler, I.Schulte et al. // *Dev. Biol*.- 2007.- Vol.305.- P.451–459.

The role of FGF and VEGF in angioblast induction and migration during vascular development / T.J.Poole, E.B.Finkelstein, C.M.Cox et al. // *Dev. Dyn*.- 2001.- Vol.220.- P.1-17.

Tomanek R.J., Hansen H.K., Dedkov E.I. Vascular patterning of the quail coronary system during development // *Anat. Rec*.- 2006.- Vol.288A.- P.989-999.

VEGF family members regulate myocardial tubulogenesis and coronary artery formation in the embryo / R.J.Tomanek, Y.Ishii, J.S.Holifield et al. // *Circ Res*.- 2006.- Vol.98.- P.947–953.

Viragh S., Challice C.E. Origin and differentiation of cardiac muscle cells in the mouse // *J. Ultrastruct. Res*.- 1973.- Vol.42.- P.1–24.

Wada A.M., Reese D.E., Bader D.M. Bves: prototype of a new class of cell adhesion molecules expressed during coronary artery development // *Development*.- 2001.- Vol.128.- P.2085-2093.

Wessels A., Pérez-Pomares J.M. The epicardium and epicardially derived cells (EPDCs) as cardiac stem cells // *Anat. Rec*.- 2003.- Vol.276A.- P.43-57.

Winter E.M., Gittenberger-de Groot A.C. Epicardium-derived cells in cardiogenesis and cardiac regeneration // *Cell. Mol. Life Sci*.- Vol.64.- 2007.- P.692-703.

Zamora M., Männer J., Ruiz-Lozano P. Epicardium-derived progenitor cells require β -catenin for coronary artery formation // *Dev. Biol*.- 2007.- Vol.104, №46.- P.18109-18114.

Потоцкая О.Ю. Происхождение эпикарда и его структурно-функциональный вклад в формирование гетерогенности сердца.

Резюме. В работе проанализированы основные черты строения проэпикарда, морфогенетические процессы формирования эпикарда и структурно-функциональное значение клеток-derivатов эпикарду, проэпикард представлен выростами латеральной плоской мезодермы (брюшинного мезотелия), которые расположены между печенью и венозным синусом у птиц и в регионе поперечной перегородки у млекопитающих; содержит клетки трех типов и проэпикардальный внеклеточный матрикс. Результатом окутывания сердечной трубки проэпикарда является формирование целостного эпикардального слоя. Клетки эпикарду (кроме региона предсердий) подвергаются процессу эпителио-мезенхимной трансформации, результатом которого есть появление клеток-derivатов эпикарда. Последние дают начало следующим клеточным популяциям: гладким миоцитам, адвентициальным фибробластам коронарных сосудов, фибробластам фиброзного скелета сердца, интерстициальным фибробластам; дискутабельной продолжает оставаться дифференциация клеток-derivатов эпикарда в ангио-, гемангиобласты и кардиомиоциты. Функциональная роль этих клеток состоит в их участии в процессах компактизации миокарду, септации, формирования эндокардиальных подушек АВ-канала, фиброзного скелета сердца, развития пассивной механики сердца, петлеобразования, дифференциации волокон Пуркинье. Дальнейшие научные исследования будут связаны с определением видовых особенностей этих процессов, их молекулярных основ и раскрытию эмбриональных потенций зрелых клеток, которые происходят из клеток-derivатов эпикарда.

Ключевые слова: проэпикард, эпикард, клетки-derivаты эпикарда.