

Т.Гудлетт

Днепропетровская государственная медицинская академия

Ключевые слова:

трехмерная реконструкция, сердце, эмбриогенез, методы исследований.

Надійшла: 14.03.2010

Прийнята: 05.05.2010

УДК 611.12:611.013:611.061.1

МЕТОДЫ ТРЕХМЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ В ИССЛЕДОВАНИИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО СЕРДЦА

Аналитический обзор проведен в рамках научно-исследовательской работы „Анализ нормального и аномального гистогенеза тканевых компонентов сердечно-сосудистой системы человека и экспериментальных животных ” (номер государственной регистрации 0105U007837).

Резюме. Техника трехмерной реконструкции резко улучшила понимание эмбриогенеза и позволила производить точные количественные измерения различных органов и их отделов. Существует множество методов, которые могут быть использованы для получения трехмерных моделей сердца на различных стадиях эмбрионального развития. Эти подходы облегчают понимание архитектуры эмбрионального сердца и позволяют количественно оценить широкий спектр геометрических параметров камер и структуры стенки сердца. Они также служат новыми инструментами для научного исследования кардиогенеза и врожденных пороков сердца. Но эти методы еще не обеспечивают такой точности исследований, которая достигается гистологическими методами и трехмерным компьютерным моделированием, и поэтому ограничены в использовании для исследования деталей различных структур.

Морфология. – 2010. – Т. IV, № 2. – С. 5-12.

© Т.Гудлетт, 2010

Goodlett T. Methods of three-dimensional modeling in embryonic heart investigations.

Summary. The 3D reconstruction technique has dramatically improved understanding of embryogenesis and allowed precise quantitative measurements of different organs and their compartments. There are many methods, which could be used to obtain 3D models of heart on different stages of embryonic development. These approaches facilitates understanding of architecture of embryonic heart and gives us the ability to estimate the quantitative amount of a wide spectrum of geometrical parameters of chambers and structure of the wall of the heart. They also serve as new tools for scientific investigation of carcinogenesis and congenital heart disease. But such methods do not yet provide anything like resolution achieved by histology and 3D computer remodeling and are therefore of limited use for studies of morphological detail.

Key words: 3D reconstruction, heart, embryogenesis, methods of investigations.

Морфогенез эмбрионального сердца - сложный и динамический процесс, механизмы которого остаются не полностью выясненными. Сердце закладывается как линейная трубка из миокарда, выстланного эндокардиальными клетками, которая функционирует как всасывающий насос (Forouhar A.S. et al., 2006). Вскоре оно подвергается процессу петлеобразования и превращается в четырехкамерное сердце, разделенное клапанами и перегородками и работающее как поршень. Этот процесс охватывает ряд ключевых событий, в том числе превращение трубчатого сердца в петлю, септацию желудочков и развитие атриовентрикулярного (АВ) клапанного аппарата, нарушения которых приводят к большому числу врожденных пороков сердца (Collins-Nakai R., McLaughlin P., 2002; A.C. Gittenberger-de Groot et al., 2005). Хотя изначаль-

но сердечная трубка содержит только часть примитивного правого желудочка, в конечном счете, все полости сердца происходят из сердечной трубки с участием других источников, например, переднего сердечного поля и проэпикардального органа. В процессе кардиогенеза размеры и форма полостей существенно изменяются, но количественной характеристике этих изменений посвящено не значительное количество исследований.

В работах группы исследователей (Wenink A.C., 1992; Кнаарен M.W. et al., 1995) были определены изменения объемов мышечной ткани в камерах сердца в процессе развития при помощи метода точечного счета, а также установлено, что у эмбрионов крысы и человека происходит увеличение размеров сердца более чем на два порядка (у мышей эмбриогенез с 11 по 17 день)

(Wenink A.C., 1992; Knaapen M.W. et al., 1995). Однако неясно, как изменяются объемы полостей различных сегментов сердца, а, впоследствии, камер в ходе пренатального онтогенеза. В исследованиях В.В.Келлер и соавторов (1996) были измерены объемы желудочков на различных стадиях развития и показано, что они увеличиваются по мере роста эмбриона, но не оценено соотношение этих объемов с объемами предсердий и выпускного тракта. Многие детали морфогенеза сердца выясняются только теперь, в частности, из-за сложных геометрических превращений камер.

Человеческое сердце становится четырехкамерным к 8 неделе пренатального развития, то есть приблизительно в то время, когда эмбрион может быть обнаружен при ультразвуковом исследовании. К этому сроку в сердце завершаются основные морфогенетические перестройки, связанные с формированием камер и перегородок (Zimmer E.Z. et al., 1994; Fong K.W. et al., 2004), поэтому существенную роль в изучении ранних процессов в развивающемся сердце играют такие биологические объекты, как курица и мышь. Затруднения, которые возникают при исследовании кардиогенеза у этих объектов, - это небольшие размеры сердца и относительно быстрая его трансформация.

Сокращающаяся сердечная трубка появляется у птиц на стадии 12 по Hamburger, Hamilton (1951), НН. Сердце курицы приобретает зрелую конфигурацию к стадии 46 по НН (21 день инкубации). У мышей аналогичные изменения происходят между 8.5 и 16.5 днем эмбриогенеза. При исследовании формы сердца используют широкий спектр методов: макроскопические, гистологические, сканирующая электронная микроскопия, оптическая растровая микроскопия, каждый из них имеет свои достоинства и недостатки. Фотографические изображения, даже с известным масштабом, не дают возможности измерить глубину изображения, ограничивая тем самым их использование для определения трехмерных пространственных характеристик. Принципиально новый взгляд на кардиогенез возникает при сочетании трехмерной реконструкции гистологических срезов и методов выявления белковых и других соединений (Moogman F.M. et al., 2000; Groenendijk B.C. et al., 2005), также это позволяет получить точное представление о локализации тех или иных процессов в развивающемся сердце. Несмотря на то, что тщательная обработка гистологических срезов и использование значительного количества срезов для реконструкции требуют много времени, такая работа позволяет с высокой точностью трансформировать полученную информацию в пространственную компьютерную модель.

Методы оптического сканирования использовались для демонстрации пространственной

организации полостей в раннем эмбриональном сердце и их изменений (Yelbuz T.M. et al., 2002; Liebling M. et al., 2005; Jenkins M. et al., 2006). Из-за ограничения эффективной глубины такого исследования возможно исследование только ранних стадий и/или оптически прозрачных препаратов. Гладкое снаружи, со значительным радиусом кривизны, сердце, благодаря наличию трабекул, перегородок и клапанов, изнутри имеет исключительно сложную геометрию. Внутренняя поверхность также является точкой приложения гемодинамических влияний. До настоящего времени представление об изменяющейся геометрии внутренней поверхности сердца получено благодаря немногочисленным работам. При этом для выявления особенностей нормального и аномального морфогенеза использовались методы трехмерной визуализации (Smith B.R., 2001; Weninger W.J., Mohun T., 2002; Schneider J.E. et al., 2003; Soufan A.T. et al., 2004), но, ни одно из этих исследований не сосредоточилось на количественной оценке трехмерной организации различных сегментов, камер и сердца в целом. Определение количественных изменений объемов камер сердца и геометрических соотношений полостей обеспечило бы понимание изменяющейся функции раннего сердца, хотя для проведения этих измерений в микроскопических тканях могут потребоваться различные методы получения изображений.

Одна из технологий, которая применяется в последние 15 лет для измерения сложных геометрических форм при малой разрешающей способности, - это микрокомпьютерная томография (микро-КТ). Микро-КТ просвечивает объект мощными рентгеновскими лучами и переводит градиент плотности объекта в объемное изображение. Сканирующая головка совершает вокруг объекта оборот в 360°, создавая практически непрерывный ряд плоских (двухмерных) срезов. При помощи микро-КТ легко могут быть получены элементы трёхмерного изображения размером менее 10 мкм (Guldberg R.E. et al., 2003). Это значительно выше, чем разрешает ультразвук (30 мкм) и магнитно-резонансное исследование (100 мкм). Микро-КТ главным образом используется для того, чтобы визуализировать и количественно оценивать архитектуру и развитие костной ткани (Guldberg R.E. et al., 2004; Chappard C. et al., 2006). Исследования с применением рентгенконтрастных веществ позволили визуализировать сосудистые структуры, связанные с заживлением перелома кости (Duvall C.L. et al., 2004), а также vasa vasorum, в частности коронарных артерий (Gossl M. et al., 2004). Возможная область применения микро-КТ - оценка полостей камер сердца в ходе эмбрионального развития. При этом дополнительная информация будет получена при сравнении этих результатов с серийной реконструкцией срезов и сканирующей

щей электронной микроскопией. К сожалению, техника микро-КТ не предоставила бы нам полной информации о волнометрических параметрах и соотношениях камер развивающегося сердца (Butcher J.T. et al., 2007).

Еще один метод – видеосъемка при световой микроскопии (video light microscopy) – применялся для получения изображения сокращающегося сердца зародыша в реальном времени. Этот метод эффективен для оценки функции желудочков раннего сердца. Однако возможности этого метода ограничены на поздних стадиях, когда позволяют оценить только поверхность сердца (Shottan D.M., 1988). Магнитно-резонансная томография с высокой разрешающей способностью (12 мкм) использовалась для получения *in vivo* изображений поперечных срезов зародышей на ранних этапах развития (Jacobs R.E., Fraser S.E., 1994). Однако значительная длительность исследования создает определенные трудности при анализе сердечной динамики, поскольку очертания структур искажаются из-за артефактов, вызванных движением. Кроме того, это достаточно дорогая и непрактичная технология.

Высокочастотная ультразвуковая микроскопия (40-100 МГц), которая обеспечивает разрешающую способность 50 мкм и глубину проникновения 4-5 мм, применялась для анализа раннего эмбрионального развития мышцы (Turnbull D.H., 1995). Необходимым условием при использовании этой методики является наличие проводящей среды либо непосредственный контакт с визуализируемым объектом.

Использование эхокардиографии в М-режиме довольно проблематично у экспериментальных животных, имеющих высокую частоту сердечного ритма, поскольку время релаксации ультразвукового трансдюцера лимитирует частоту, с которой регистрируются данные. В недавних работах использование трехмерной реконструкции компонентов предсердий (Soufan A.T., 2006), процессов пролиферации в формирующейся сердечной трубке (van den Berg G., 2009) позволило получить начальные представления о той информации, которую можно извлечь при изучении компьютерных моделей сердца.

Наши исследования анализируют строение полостей и стенок камер сердца в различные стадии сердечного цикла (Goodlett T., 2009). Сдвиги, регистрируемые на ультрамикроскопическом уровне, через тканевой и органной уровень организации реализуются как систолические и диастолические изменения формы сердца. Существенную динамику при этом демонстрирует расстояние между соседними вставочными дисками, длина саркомеров. По данным исследования, средняя длина саркомера в левой части межжелудочковой перегородки увеличивалась в диастолу и уменьшалась в систолу. Эти изменения

позволяют объяснить уровень желудочкового выброса, так как, в конечном итоге, они определяют поперечное сечение мышечного волокна, длину кардиомиоцитов и сосочковых мышц. Это, в свою очередь, позволяет понять архитектуру эмбрионального сердца в ходе сердечного цикла. Данные, полученные при пространственной реконструкции, особенно информативны при проведении количественного анализа. Благодаря количественной оценке и последующей статистической обработке широкого спектра геометрических параметров полостей и стенок сердца в течение сердечного цикла с использованием трехмерных изображений полученная информация станет менее субъективной и более значимой. Разрабатываемые методы также применимы к исследованию экспериментальной патологии сердца.

Последние достижения эхокардиографии, в частности, разработка трехмерной ультразвуковой кардиографии, дали толчок исследованию геометрической формы внутренних структур сердца, например, фиброзных колец. Пространственное строение двустворчатого клапана здоровых лиц и кардиологических больных была подробно изучена при помощи трехмерной ультразвуковой кардиографии. До появления трехмерной эхокардиографии, форма и функция митрального клапана в течение сердечного цикла исследовались при помощи других методов трехмерной визуализации. Так, было установлено, что геометрия фиброзных колец изменяется во время систолы. Известно, что размер фиброзного кольца увеличивается во второй половине систолы после пресистолического сужения кольца, а затем продолжает увеличиваться в ранней диастолы и достигает максимума во время поздней диастолы. При получении трехмерных изображений с помощью этого метода были определены ограничения, так как для пространственной реконструкции внутренней структуры сердца еще до начала построения модели необходимо определить соответствующие анатомические ориентиры. Подобный подход позволяет оценить трехмерное строение митрального и трикуспидального клапанов, но не их объемное отношение к полостям в течение сердечного цикла.

Недавно разработанные методы, как, например, лазерная микродиссекция в сочетании с количественной цепной полимеразной реакцией или масс-спектрометрией, могут быть использованы для оценки определенных параметров. Однако их сложно применять в эмбриологических исследованиях из-за небольших размеров и сложной морфологии развивающегося сердца. Такие мощные методы, как серийный анализ геной экспрессии и микропробы, позволяют получать данные об экспрессии генов, но не дают пространственной информации. Использование методов идентификации мРНК и белков,

гибридизации *in situ* и иммуногистохимии позволяет локализовать специфическую мРНК и белки в определенных клетках и тканях. Комбинирование этих методов с радиоактивными исследованиями и автордиографией позволяет проводить калибровку с последующей количественной оценкой интенсивности окрашивания (Jonker A., 1997; Ruijter J.M., 2001). Для умеренно «аморфных» органов, состоящих из изотропной ткани (печень), ограниченное число срезов может дать полную информацию о генной экспрессии и ее градиенте. Для таких сложных объектов, как развивающееся сердце, пространственное распределение специфического продукта генной экспрессии должно быть картировано по всему органу. В этом случае изучение нескольких случайных срезов не достаточно.

Трехмерные реконструкции при изучении эмбрионального развития изначально основывались на схематическом очерчивании интересующего органа и дальнейшем изображении реконструированных органов медицинскими художниками (Huijsmans D.P., 1986; Verbeek F.J., 1995). С появлением цифровых камер методы пространственного восстановления получили широкое распространение. Обзор существовавших ранее методов реконструкции показал, что они не давали точной информации и, в то же время, были чрезвычайно трудоемкими для исследователей, которые реализовывали свои протоколы реконструкции с помощью доступных в то время аппаратных средств и программного обеспечения. Недавно были опубликованы результаты, базирующиеся на сборе эпископических изображений (Ewald A.J., 2002; Weninger W.J., 2002). Эпископические методы, основанные на флюоресценции, дают возможность получить изображение с высоким разрешением непосредственно перед порезкой.

В работе T.Alexandre (2003) на основании оригинального протокола были картированы и реконструированы миокард и полость сердца последовательного ряда развивающихся эмбрионов мыши. Миокард сердца определялся как структура, окрашивающаяся смесью специфических для миокарда образцов мРНК с использованием метода нерадиоактивной гибридации *in situ*. Изучение реконструкций показало, что сердца на одном и том же сроке эмбрионального развития у одного вида идентичны. Двух или трех реконструкций на один срок, по-видимому, достаточно для создания репрезентативной модели данной стадии развития. Морфология восстановленных моделей напоминает морфологию тотальных препаратов окрашенных сердец. Объемные количественные характеристики сердец на аналогичной стадии отличаются в пределах 10%. Эти предварительные результаты указывают на то, что биологическое варьирование не создает проблем для оценки популяции в целом.

Необходимо отметить, что параметры были рассчитаны согласно принципу Cavalieri и, таким образом, являются объективной оценкой объема миокарда (Howard C.V., 1998).

Волнометрические данные структур развивающегося сердца могут быть использованы в математических и функциональных моделях развития сердца. Исходя из этих данных, было определено, что увеличение объема миокарда мыши в 100 раз происходит за 6 дней (в период с 8.5 до 14.5 сутки эмбриогенеза) (Soufan A.T., 2003). Если предположить, что все клетки, находящиеся в сердце, проходят деление в этот период, это увеличение объема соответствовало бы 6.6 клеточным делениям, то есть каждая клетка должна вступать в деление хотя бы один раз каждые 24 часа. Однако, по данным литературы (Cluzeaut F., 1986; Thompson R.P., 1990) и данным, полученным в ходе количественного моделирования (Soufan A.T., 2001), известно, что кардиомиоциты отличаются по продолжительности клеточного цикла как в пределах сердца на данной стадии, так и в органе на различных стадиях развития. Увеличение объема может быть объяснено не только митозом, - иные механизмы, в том числе рост, миграция и трансформация клеток должны также приниматься во внимание. Таким образом, наши представления о динамике развития сердца на всех стадиях эмбрионального развития дополняются важной информацией благодаря данным, полученным при количественной и объемной трехмерной компьютерной реконструкции.

Применяемые ранее для анализа сокращения сердца принципы механики мышц (Fry D.L., Ghiggs D.M., 1964; Levine H.J., 1964; Ross J.Jr., Covell J.W., 1966), фокусировались на необходимости получения подробной информации, касающейся анатомии сокращения желудочка. В настоящее время существует большое количество пробелов в знаниях об изменениях конфигурации стенки сердца, ориентации мышечных волокон и размера саркомеров в течение сердечного цикла. Это необходимо для построения геометрических моделей, анализирующих механику сокращения желудочка, а также для формирования представлений о корреляции между структурой и функцией сердца в норме и при патологии. Изучение внешних и внутренних параметров левого желудочка *in situ* и ангиографии выявило изменение формы и объема левого желудочка в течение сердечного цикла, а исследование изолированных сосочковых мышц и левого желудочка установило соотношение между размерами саркомеров, длиной мышц и объемом пассивного сердца (Hort W., 1960; Spotnitz H.M., 1966). Однако, исследование внешних и внутренних размеров других отделов сердца, а также анализ полостей эмбрионального сердца в динамике, в то время не были произведены.

До настоящего времени не проводилось ис-

следование макроскопической анатомии и внутреннего строения сокращающегося левого желудочка при известных гемодинамических условиях. Описанные в ряде работ методы быстрой фиксации сердца в систоле или диастоле позволили провести анализ геометрии полости и стенок желудочка при определенных гемодинамических условиях. Информация, полученная при помощи прямых измерений и динамических техник, может быть применена для разработки соответствующих геометрических моделей, которые использовались бы для анализа механических свойств сокращения и расслабления желудочка. Изменения формы, объема и толщины стенок желудочка требуют создания непрерывно изменяющейся модели, которая, будучи соотнесена с установленными значениями давления и тока крови, в конечном счете, позволила бы точно вычислить распределение напряжений и укорочений волокон на протяжении сердечного цикла.

Дальнейшие исследования будут проведены на желудочках сердца, на различных стадиях эмбрионального развития, чтобы изучить важную проблему изменения ориентации и распределения мышечных волокон в стенке желудочка во время систолы и диастолы. Для того чтобы полностью проанализировать геометрию этих волокон во время сердечного цикла, необходимо выполнить трехмерную реконструкцию и сравнить пространственное расположение мышечных волокон на всех стадиях не только постнатального, но и пренатального развития, что ранее было довольно затруднительным.

Поскольку морфогенетические изменения в сердце имеют пространственный характер, чрезвычайно важно проводить трехмерную визуализацию и анализ развития сердца с помощью других методов. Трехмерная визуализация является мощным инструментом эмбриологических исследований и существенно помогает понять динамику морфогенетических изменений эмбриона (Yamada S. et al., 2006). Попытки трехмерной реконструкции эмбриональных структур предпринимались со времени выделения эмбриологии в самостоятельную отрасль знаний. Обычно пространственная реконструкция эмбриональных структур выполнялась на основании серийных гистологических срезов эмбрионов, часто с применением техники восковых пластин (Born J., 1883). Однако, подобные методы реконструкции и изображения требуют значительных затрат времени и владения специальными навыками. Недавние достижения вычислительной техники сделали компьютерную реконструкцию биологических структур более эффективной. С помощью этого метода уже реконструированы различные трехмерные структуры, смоделированные изображения могут быть обработаны по желанию исследователя. В области изучения разви-

тия сердца и крупных сосудов компьютерное моделирование и компьютерная графика применяются для визуализации развивающегося сердца и сосудов мыши (Smith B.R., 2001; Schneider J.E. et al., 2003), курицы (Hiruma T., Hirakow R., 1995) и человека (DeGroff C.G. et al., 2003; Abdulla R. et al., 2004). В исследовании на мышах серийные трехмерные изображения развивающегося сердца были получены на сроках с 8.5 по 14.5 день эмбриогенеза (Soufan A.T. et al., 2003).

На сегодняшний день предпринимались попытки реконструкции сердца и крупных сосудов на стадиях развития эмбриона человека с использованием компьютерных программ. Они продемонстрировали, что компьютерная реконструкция является полезным и мощным инструментом для подробного анализа трехмерного фенотипа эмбрионов. Во время эмбрионального развития происходят координированные в пространстве и времени морфогенетические изменения. Сердечно-сосудистая система – одна из систем органов, подвергающихся форсированным перестройкам в ходе онтогенеза. В наиболее ранних работах пространственные изменения сердца и крупных сосудов эмбрионов человека изучались по гистологическим срезам и с помощью восковых пластин (Congdon E.D., 1922; Streeter G., 1948); эти работы позволили сделать значительный вклад в изучение эмбрионального развития человека и впоследствии цитировались другими эмбриологами (Cooper M.H., O’Rahilly R., 1971; O’Rahilly R., 1971). Исследования с использованием компьютерной реконструкции сердца и крупных сосудов нормально развитых эмбрионов в значительной степени подтвердили результаты этих классических исследований, хотя и были отмечены некоторые несоответствия.

В работе (Yamada S., 2007) реконструкция структур полости сердца и крупных сосудов эмбриона человека в развитии по серийным гистологическим срезам продемонстрировала их последовательные пространственные изменения. Анатомические структуры были проанализированы при помощи трехмерных изображений. В то же время информация о структурах полостей, их волнометрических и морфологических изменениях во время развития сердца оказалась неполной.

Описанные в нашем обзоре подходы способствуют лучшему пониманию архитектуры эмбрионального сердца и позволяют дать количественную оценку широкому спектру геометрических параметров камер и структур стенки сердца. Они также являются новым инструментом исследования нормального кардиогенеза и развития врожденных патологий сердца. Необходимо отметить, что большинство методов не обладают в достаточной степени той разрешающей способностью, которую дает совместное

Литературные источники

- 3D reconstructions as identification tool in heart development / A. T. Soufan, J. M. Ruijter, M. J. B. van den Hoff, A. F. M. Moorman // *Image Anal. Stereol.* – 2001. – P. 193–198.
- 4D embryonic cardiography using gated optical coherence tomography / M. Jenkins, F. Rothenberg, D. Roy [et al.] // *Optics Express.* – 2006. – Vol. 14. – P. 736–748.
- Abdulla R. Cardiovascular embryology / R. Abdulla, G. A. Blew, M. J. Holterman // *Pediatr. Cardiol.* – 2004. – Vol. 25. – P. 191–200.
- Analyzing bone, blood vessels, and biomaterials with microcomputed tomography / R. E. Guldberg, R. T. Ballock, B. D. Boyan [et al.] // *IEEE Eng. Med. Biol Mag.* – 2003. – Vol. 22. – P. 77–83.
- Basics of cardiac development for the understanding of congenital heart malformations / Groot A.C Gittenberger-de, M. M. Bartelings, M. C. Deruiter, R. E. Poelmann // *Pediatr. Res.* – 2005. – Vol. 57. – P. 169–176.
- Born G. Die Plattenmodelliermethode / G. Born // *Arch. Mikr. Anat.* – 1883. – Vol. 22. – P. 584–599.
- Calibration of densitometry in radio-isotopic in situ hybridization / J. M. Ruijter, J. Hagoort, P. A. J. de Boer, A. F. M. Moorman // *Image Anal. Stereol.* – 2001. – Vol. 20. – P. 219–224.
- Changes in shear stress-related gene expression after experimentally altered venous return in the chicken embryo / B. C. Groenendijk, B. P. Hierck, J. Vrolijk [et al.] // *Circ. Res.* – 2005. – Vol. 96. – P. 1291–1298.
- Cluzeaut F. Proliferation of cardiomyocytes and interstitial cells in the cardiac muscle of the mouse during pre- and postnatal development / F. Cluzeaut, B. Maurer-Schultze // *Cell Tissue Kinet.* – 1986. – Vol. 19. – P. 267–274.
- Collins-Nakai R. How congenital heart disease originates in fetal life / R. Collins-Nakai, P. McLaughlin // *Cardiol. Clin.* – 2002. – Vol. 20. – P. 367–383.
- Computerized morphometric facilities: a review of 58 software packages for computer-aided three-dimensional reconstruction, quantification and picture generation from parallel serial section / D. P. Huijsmans, W. H. Lamers, J. A. Los, J. Strackee // *Anat. Rec.* – 1986. – P. 449–470.
- Congdon E. D. Transformation of the aortic arch system during the development of the human embryo / E. D. Congdon // *Contrib. Embryol.* – 1922. – Vol. 14. – P. 47–110.
- Contractile state of the heart characterized by force-velocity relations in variably afterloaded and isovolumic beats / J. Jr. Ross, J. W. Covell, E. H. Sonnenblick, E. Braunwald // *Circulation Res.* – 1966. – Vol. 18. – P. 149.
- Cooper M. H. The human heart at seven post-ovulatory weeks / M. H. Cooper, O'Rahilly // *RActa Anat. (Basel).* – 1971. – Vol. 79. – P. 280–299.
- Design and implementation of a database and program for 3D-reconstruction from serial sections: a data-driven approach / F. J. Verbeek, D. P. Huysmans, R. J. A. M. Baeten [et al.] // *Microsc Res Tech.* – 1995. – P. 496–512.
- Detection of fetal structural abnormalities with US during early pregnancy / K. W. Fong, A. Toi, S. Salem [et al.] // *Radiographics.* – 2004. – Vol. 24. – P. 157–174.
- Flow in the early embryonic human heart: a numerical study / C. G. DeGroff, B. L. Thornburg, J. O. Pentecost [et al.] // *Pediatr. Cardiol.* – 2003. – Vol. 24. – P. 375–380.
- Four dimensional cardiac imaging in living embryos via postacquisition synchronization of non gated slice sequences / M. Liebling, A.S. Forouhar, M. Gharib [et al.] // *J. Biomed. Opt.* – 2005. – Vol. 10. 054001.
- Gert van den Berg. A caudal proliferating growth center contributes to both poles of the forming heart tube / van den Berg Gert, Abu - Issa Radwan // *Circ. Res.* – 2009. – Vol. 104. – P. 179–188.
- Goodlett T. Three-dimensional reconstruction during diastole as a new tool in the understanding of morphology of embryo heart / Goodlett T // *Морфологія.* – 2009. – Vol. 3, № 4. – P. 19–24.
- Gossl M. Vasa vasorum growth in the coronary arteries of newborn pigs / M. Gossl, M. Zamir, E.L. Ritman // *Anat. Embryol. (Berl).* – 2004. – Vol. 208. – P. 351–357.
- Graphic and movie illustrations of human prenatal development and their application to embryological education based on the human embryo specimens in the Kyoto collection / S. Yamada, C. Uwabe, T. Nakatsu-Komatsu [et al.] // *Dev. Dyn.* – 2006. – Vol. 235. – P. 468–477.
- Hiruma T. Formation of the pharyngeal arch arteries in the chick embryo: observations of corrosion casts by scanning electron microscopy / T. Hiruma, R. Hirakow // *Anat. Embryol. (Berl).* – 1995. – Vol. 191. – P. 415–423.
- Imaging microscopy, an automated method for visualizing whole embryo samples in three dimensions at high resolution / A. J. Ewald, H. McBride, M. Reddington [et al.] // *Dev. Dyn.* – 2002. – P. 369–375.
- In vivo assessment of embryonic cardiovascular dimensions and function in day-10.5 to -14.5 mouse embryos / B. B. Keller, M. J. MacLennan, J. P. Tinney, M. Yoshigi // *Circ. Res.* – 1996. – Vol. 79. – P. 247–255.

- Jacobs R. E. Magnetic resonance microscopy of embryonic cell lineages and movements / R. E. Jacobs, S. E. Fraser // *Science*. – 1994. – Vol. 263. – P. 681–684.
- Kammern Hort, W. Makroskopische und mikrometrische Untersuchungen am Myokard verschfeden starkgefullter linker Hort W. Kammern // *Virchows Arch. Path. Anat. Physiol. Klin.. Med.* – 1960. – Vol. 333. – P. 523.
- Knaapen M. W. Growth of the myocardial volumes of the individual cardiac segments in the rat embryo / M. W. Knaapen, B. C. Vrolijk, A.C. Wenink // *Anat. Rec.* – 1995. – Vol. 243. – P. 93–100.
- Kwan Jun. 3D geometry of a normal tricuspid annulus during systole: A comparison study with the mitral annulus using real-time echocardiography / Jun Kwan // *Eur. J. Echocardiography*. – 2007. – P. 375–383.
- Levine H. J. Force velocity relations in the intact dog heart / H. J. Levine, N. A. Britman // *J. Clin. Invest.* – 1964. – Vol. 43. – P. 1383.
- Mesud Yelbuz T. Optical Coherence Tomography. A New high-resolution imaging technology to study cardiac development in chick embryos / T. Mesud Yelbuz, Michael A. Choma // *Circulation*. – 2002. – Vol. 106. – P. 2771–2774.
- Microcomputed tomography imaging of skeletal development and growth / R. E. Guldberg, A. S. Lin, R. Coleman [et al.] // *Birth Defects Res C Embryo Today*. – 2004. – Vol. 72. – P. 250–259.
- Myocardial mechanics: Tension velocity-length relationships of heart muscle / D. L. Fry, D.M. Jr. Ghiggs, J. C. Jr. Greenfield // *Circulation Res.* – 1964. – Vol. 14. – P. 73.
- O’Rahilly R. The timing and sequence of events in human cardiogenesis / R. O’Rahilly // *Acta Anat. (Basel)*. – 1971. – Vol. 79. – P. 70–75.
- Quantitative in situ hybridization / A. Jonker, P. A. J. de Boer, M. J. B. van den Hoff [et al.] // *J. Histochem. Cytochem.* – 1997. – P. 413–423.
- Quantitative microcomputed tomography analysis of collateral vessel development after ischemic injury / C. L. Duvall, W. Robert Taylor, D. Weiss, R. E. Guldberg // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – P. 302–310.
- Quantitative volumetric analysis of cardiac morphogenesis assessed through micro-computed tomography / John Jr. Ross, H. Edmund, Sonnenblick [et al.] // *Developmental Dynamics*. – 2007. – Vol. 236. – P. 802–809.
- Quantitative volumetric analysis of cardiac morphogenesis assessed through micro-computed tomography / J. T. Butcher, D. Sedmera, R. E. Guldberg [et al.] // *Development. Dynamics* – 2007. – Vol. 236. – P. 802–809.
- Radio-isotopic in situ hybridization on tissue sections. Practical aspects and quantification / A. F. Moorman, P. A. De Boer, J. M. Ruijter [et al.] // *Methods Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 137. – P. 97–115.
- Rapid identification and 3D reconstruction of complex cardiac malformations in transgenic mouse embryos using fast gradient echo sequence magnetic resonance imaging / J. E. Schneider, S. D. Bamforth, C. R. Farthing [et al.] // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2003. – Vol. 35. – P. 217–222.
- Reconstruction of the patterns of gene expression in the developing mouse heart reveals an architectural arrangement that facilitates the understanding of atrial malformations and arrhythmias / A. T. Soufan, M. J. van den Hoff, J. M. Ruijter, P. A. de Boer [et al.] // *Circ. Res.* – 2004. – Vol. 95. – P. 1207–1215.
- Regional differences in DNA-synthetic activity in the preseptation myocardium of the chick. In: *Developmental Cardiology: Morphogenesis and Function*, edited by E. B. Clark, A. Takao, R. P. Thompson [et al.] // Mount Kisco, NY Futura Publishing Co. – 1990. – P. 219–234.
- Shigehito Yamada. Computerized Three-Dimensional analysis of the heart and great vessels in normal and holoprosencephalic human embryos / Yamada Shigehito // *The anatomical record*. – 2007. – Vol. 290. – P. 259–267.
- Shottan D. M. Video enhanced light microscopy and its application in cell biology / D. M. Shottan // *J. Cell Sci.* – 1988. – Vol. 89. – P. 129–150.
- Smith B. R. Magnetic resonance microscopy in cardiac development / B. R. Smith // *Microsc. Res. Tech.* – 2001. – Vol. 52. – P. 323–330.
- Soufan A. T. Regionalized Sequence of myocardial cell growth and proliferation characterizes early chamber formation / A. T. Soufan, van den Berg Gert // *Circ. Res.* – 2006. – Vol. 99. – P. 545–552.
- Spotnitz H. M. Relation of ultrastructure to function in the intact heart: sarcomere structure relative to pressure volume curves of intact left ventricles of dog and cat / H. M. Spotnitz, E. H. Sonnenblick, D. Spiro // *Circulation Res.* – 1966. – Vol. 18. – P. 49.
- Streeter G. Developmental horizons in human embryos: description of age groups XV, XVI, XVII and XVIII, being the third issue of a survey of the Carnegie Collection / G. Streeter // *Contrib. Embryol.* – 1948. – Vol. 32. – P. 133–203.
- Subchondral bone micro-architectural alterations in osteoarthritis: a synchrotron micro-computed tomography study / C. Chappard, F. Peyrin, A. Bonnassie [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2006. – Vol 14. – P. 215–223.
- The Architecture of the heart in systole and diastole: Technique of rapid fixation and analysis of left ventricular geometry / John Ross Jr, H. Edmund, Sonnenblick [et al.] // *Circ. Res.* – 1967. – Vol. 21. – P. 409–421.
- The embryonic vertebrate heart tube is a dynamic suction pump / A. S. Forouhar, M. Liebling, A. Hickerson [et al.] // *Science*. – 2006. – Vol. 312. – P. 751–753.

Three – dimensional reconstruction of gene expression patterns during cardiac development / A. T. Soufan, J. M. Ruijter, M. J. van den Hoff, Piet A J de Boer [et al.] // *Physiol Genomics*. – 2003. – Vol. 13. – P. 187-195.

Three-dimensional reconstruction of gene expression patterns during cardiac development / A. T. Soufan, J. M. Ruijter, M. J. van den Hoff [et al.] // *Physiol. Genom.* – 2003. – Vol. 13. – P. 187–195.

Ultrasound backscatter microscope analysis of early mouse embryonic brain development // D. H. Turnbull, T. S. Bloomfield, H. S. Baldwin [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92. – 1995. – P. 2239–2243.

Unbiased Stereology: Three-Dimensional measurement in microscopy / Howard CV and Reed MG

// UK: BIOS Scientific Publishers. – 1998. – P. 39–44.

Weninger W. J. Phenotyping transgenic embryos: a rapid 3-D screening method based on episcopic fluorescence image capturing / W. J. Weninger, T. Mohun // *Nat. Genet.* – 2002. – Vol.30. – P. 59–65.

Wenink A. C. Quantitative morphology of the embryonic heart: an approach to development of the atrioventricular valves / A. C. Wenink // *Anat. Rec.* – 1992. – Vol. 234. – P. 129–135.

Zimmer E. Z. Amniotic sac, fetal heart area, fetal curvature, and other morphometrics using first trimester vaginal ultrasonography and color Doppler imaging / E. Z. Zimmer, C. R. Chao, R. Santos // *J. Ultrasound Med.* – 1994. – Vol. 13. – P. 685–690.

Гудлетт Т. Методи тривимірного моделювання в дослідженні ембріонального серця.

Резюме. Техніка тривимірної реконструкції різко покращила розуміння ембріогенезу та дозволила виконувати точні кількісні вимірювання різноманітних органів та їх відділів. Існує багато методів, які можуть бути використані для отримання тривимірних моделей серця на різних стадіях ембріонального розвитку. Ці підходи полегшують розуміння архітектури ембріонального серця і дозволяють кількісно оцінити широкий спектр геометричних параметрів камер та структури стінки серця. Вони також слугують новими інструментами для наукового дослідження кардіогенезу та вроджених вад серця. Але ці методи ще не забезпечують такої точності досліджень, яка досягається гістологічними методами та тривимірним комп'ютерним моделюванням, і тому обмежені у використанні для досліджень деталей різноманітних структур.

Ключові слова: тривимірна реконструкція, серце, ембріогенез, методи дослідження.