

КУРИНЫЙ ЭМБРИОН КАК ОБЪЕКТ ЭКСПЕРИМЕНТА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РАЗВИТИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

© А.Х. Каде, А.И. Трофименко, А.Ю. Туровая, Д.А. Певзнер, В.В. Лазарев,
Е.Е. Лысов, С.А. Погосян, Я.И. Минина

ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России,
Краснодар, Россия

В настоящее время врожденные сердечно-сосудистые заболевания (ССС), в том числе врожденные пороки сердца, вносят значительный вклад в структуру заболеваемости и смертности детей во всем мире. В связи с этим, эксперименты по изучению развития ССС на ранних этапах онтогенеза представляются перспективными источниками информации для создания теоретической основы знаний о врожденной патологии ССС. Статья посвящена обзору литературных данных по использованию куриных эмбрионов для экспериментального изучения физиологии и патологии развития ССС. В связи с доступностью, крупными размерами в сравнении с другими представителями *Aves*, простотой манипуляций и культивирования, куриные эмбрионы часто используются как модель для описания развития сердца и его васкуляризации. Экспериментальные работы с куриными эмбрионами заложили основу знаний о формировании миокарда, эпикарда, эндокарда, коронарного русла, камер сердца и магистральных сосудов в процессе эмбриогенеза. При этом, ввиду высокой консервативности многих ключевых механизмов раннего онтогенеза полученные на курином эмбрионе данные возможно экстраполировать на человека. С развитием новых биомедицинских технологий, в первую очередь методик прижизненной визуализации, расширился круг возможных вмешательств на ССС куриного эмбриона. С учетом указанных преимуществ и совершенствования методик, экспериментальные модели на основе куриных эмбрионов не теряют актуальность и по сегодняшний день.

Ключевые слова: онтогенез сердца, патология развития сердца, куриный эмбрион, экспериментальная модель, эксперимент.

CHICK EMBRYO AS AN EXPERIMENTAL OBJECT FOR STUDYING DEVELOPMENT OF CARDIOVASCULAR SYSTEM

A.Kh. Kade, A.I. Trofimenko, A.Iu. Turovaia, D.A. Pevzner, V.V. Lazarev,
E.E. Lysov, S.A. Pogosian, Ya.I. Minina

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

Currently, congenital diseases of the cardiovascular system (CVS) including congenital heart defects, make a considerable contribution to children's morbidity and mortality worldwide. In this regard, experiments that study development of cardiovascular diseases in the early stages of the ontogenesis seem to be a promising source of information providing theoretical basis for the knowledge of congenital cardiovascular pathology. The article presents review of literature data concerning use of chick embryos for experimental study of physiology and pathology of development of cardiovascular system. Due to the availability, large size in comparison with other representatives of *Aves*, simplicity of use in manipulations and in culturing, chick embryos are



often used as a model for description of development of the heart and of its vascularization. Experimental works with chick embryos laid the basis for the knowledge of formation of the myocardium, epicardium, endocardium, coronary vasculature, heart chambers and the main vessels in the process of embryogenesis. A high conservatism of many key mechanisms of the early ontogenesis makes it possible to extrapolate the data obtained in such experiments, to humans. Development of the novel biomedical technologies, first of all, of intravital imaging, permitted to expand the range of possible interventions into the CVS of the chick embryo. Taking into account the mentioned advantages and improvements of the methods, experimental models based on chicken embryos do not lose relevance up to this day.

Keywords: *ontogenesis of the heart, pathology of heart development, chick embryo, experimental model, experiment.*

Использование куриных эмбрионов заложило основу для экспериментального изучения физиологии и патологии сердечно-сосудистой системы (ССС). В связи с доступностью, крупными размерами, простотой манипуляций и культивирования куриные эмбрионы служат моделью для изучения закладки, развития и васкуляризации сердца. При этом, ввиду высокой консервативности многих ключевых механизмов раннего онтогенеза, полученные данные могут быть экстраполированы на человека. Этому способствовала разработка методик для *in ovo*, *ex ovo*, *in vitro* исследований биохимии, генетики, физиологии и патологии различных аспектов морфогенеза сердца [1,2]. Именно на куриных эмбрионах изучались роль клеток эндocardia в закладке коронарных сосудов во время трабекуляции миокарда и механизм образования аорты, а также формирование проэпикарда и эпикарда [3].

Роль проэпикарда в формировании коронарного русла

Современные данные о роли проэпикарда (ПЭ) в формировании коронарного русла основаны на исследованиях, проведенных на куриных эмбрионах. Развитие коронарных сосудов начинается, когда мезотелиальные клетки ПЭ перемещаются из зачатка печени к поверхности сердца, где они дифференцируются в клеточные линии, составляющие различные отделы сердца. У цыплят ПЭ возникает из мезотелиальных клеток, расположенных вдоль каудальной границы перикардальной по-

лости, которые легко выявляются методами световой микроскопии и хорошо поддаются экспериментальным манипуляциям [4].

Клетки ПЭ, связанные с процессом иницирования трабекуляции мигрируют к сердцу, формируя его внешний слой – эпикард, который интегрируется в стенку миокарда, что приводит к началу формирования коронарной сосудистой сети и увеличению числа фибробластов в стенке миокарда [5]. Неудачное слияние ПЭ с сердцем приводит к формированию дефектов коронарного кровообращения и истончению миокарда [6].

Эксперименты с мечением клеток ПЭ флуоресцентными белками и β -галактозидозой выявляют окрашенные соответствующим способом гладкие миоциты и эндотелиоциты коронарных артерий у зрелых эмбрионов, что подтверждает гипотезу о формировании коронарных артерий непосредственно из ПЭ [3]. Предотвращение прикрепления клеток ПЭ к сердцу у цыплят препятствует развитию коронарных сосудов. Это также подтверждает необходимость клеток ПЭ для образования коронарных сосудов [7]. Достигнутые успехи в понимании механизмов развития коронарных сосудов, происхождения эндотелиальных клеток сердца, а также уникальные свойства куриных эмбрионов делают их полезной экспериментальной моделью. Когда меченные перепелиные клетки ПЭ пересаживаются в развивающийся куриный эмбрион, они приводят к развитию в сердце цыпленка-реципиента гладкомышечных клеток и

фибробластов, при этом, в их коронарных артериях и эндокарде отсутствуют эндотелиальные клетки. Для развития эндотелиоцитов эмбриону-реципиенту требуется, помимо ПЭ клеток, еще и трансплантация печени перепела [8].

При исследовании культур клеток ПЭ, полученных от куриных эмбрионов, выявлен ряд регуляторных механизмов, приводящих эпикардиальный эпителий к эпителиальному мезенхимальному переходу (ЭМП) и клеточной дифференциации, которая необходима для развития коронарных сосудов [9]. В процессе своего развития клетки подвергаются ЭМП, что приводит к изменениям морфологии, поляриности и подвижности клетки. Эксперименты на куриных эмбрионах помогли определить функцию хемокинов во время ЭМП в сердце [10].

Эксперименты на эмбрионах способствовали пониманию ключевых механизмов развития сердечного клапана на ранних стадиях морфогенеза и выявили гетерогенность эндокардиальных клеток в эмбриональном сердце. Структурный анализ эмбрионального сердца выявил трансформацию эндокардиальных клеток в богатых матриксом клапанообразующих областях сердца – эндокардиальных подушках [11]. Разработка системы культивирования *in vitro* для оценки эмбриональной клапанообразующей ткани [12] предоставила возможность четкого описания процесса трансформации эндокардиальных клеток, на основе чего разработана система скрининга и идентификации морфогенов, которые регулируют клеточную трансформацию. В ходе культивирования на коллагеновом геле при использовании определенных областей сердечной трубки, стало возможным выделить заинтересованные типы клеток и изучить механизмы их трансформации в ходе развития клапанов сердца. В большинстве исследований используется область сердечной трубки, которая лежит между общим предсердием и желудочком, так называемая атриовентрикулярная подушка (АВП), где образуются

приточные клапаны. Трансформация имплантированной АВП широко изучалась в экспериментах на эмбрионах птиц [13,14]. Данные эксперименты показали, что эндокард подушек функционально отличается от эндокарда, перекрывающего желудочек [14]. Описание гетерогенности эндокардиальных клеток, при использовании эмбриона, имеет решающее значение для понимания ранних этапов развития клапанов и разработки аналогичных экспериментальных методик у других организмов.

Использование метода эксплантатов *in vitro* привело к идентификации ключевых регуляторов трансформации эндокардиальных клеток. Классическим примером является идентификация роли трансформирующего фактора роста β (TGF β) в развитии сердца. Добавление лигандов, нейтрализующих антисывороток или антисмысловых олигонуклеотидов к культуре экспланта позволило выявить специфические лиганды TGF β и рецепторы, которые регулируют трансформацию эндокардиальных клеток [15]. Значительное совершенствование метода эксплантатов достигнуто благодаря технологии использования вирусных векторов для введения генов в АВП или эндокардиальные клетки желудочка. В первоначальных экспериментах использовали инкубацию эксплантов с культуральной жидкостью, содержащей вирусный вектор для введения генов в эндокардиальные клетки, что зачастую приводило к неэффективному заражению эндокардиальных клеток. Первоначально этот подход был использован для идентификации роли атипичного рецептора TGF β типа III (TGF β R3) при трансформации эндокардиальных клеток. Более поздние *ex ovo* модификации этого метода, за счет использования новых способов культивирования [16], позволили проводить манипуляции на эмбрионе вне яйца, благодаря этому раствор, содержащий вирус, мог быть введен непосредственно в просвет сердечной трубки на этапе ее развития до присоединения к сосудистой сети [17]. Инъекция раствора, содержащего

аденовирус, приводит к высокоэффективному инфицированию эндокардиальных клеток по всей трубке сердца. Впоследствии в АВП или эксплантах желудочков проводится подсчет количества инфицированных эндокардиальных клеток, которые подверглись трансформации. В экспериментах использовался перенос аденовирусного гена для исследования функции $TGF\beta R3$ в эндокардиальных клетках. Сверхэкспрессия этого рецептора в желудочковых эндокардиальных клетках, которые обычно не имеют $TGF\beta R3$, приводит к их трансформации после добавления $TGF\beta$ -лиганда. Эти исследования на курином эмбрионе идентифицировали ключевые сигнальные молекулы, которые регулировали трансформацию эндокардиальных клеток и способствовали разработке подобной системы для *in vitro* исследования у мыши, что позволило дополнить данные полученные на куриных эмбрионах [18]. Постоянный интерес к трансформации эндокардиальных и эндотелиальных клеток, как при развитии клапанов, так и в выявлении механизмов, лежащих в основе трансформации эндокардиальных клеток, свидетельствует о том, что исследования на куриных эмбрионах по-прежнему актуальны.

Сердечный нейральный гребень

Сердечный нейральный гребень необходим для нормального развития и дальнейшего функционирования ССС. Клетки нейрального гребня могут быть получены из нервных складок, расположенных между серединами отических плакод и каудальной частью 3-го сомита. Особенностью клеток данного вида является возможность дифференцировки в различные типы мезенхимальных клеток, которые участвуют в развитии ССС, в дополнение к нейрогенным клеткам.

Удаление первичного сердечного нейрального гребня приводит к ряду сердечно-сосудистых аномалий. К ним относятся: общий артериальный ствол, двойное отхождение магистральных сосудов от правого желудочка, двуприточный левый желудочек [19]. Не кардиальные аномалии

могут приводить к аплазии или гипоплазии тимуса, щитовидной железы и паращитовидных желез [20].

Эксперименты с использованием эмбрионов птиц, особенно куриных химер, позволили провести анализ миграции и дифференцировки клеток нейрального гребня [21]. Этот подход показал важную роль клеток нейрального гребня в развитии сердца. В частности, данные клетки вносят вклад в развитие аорто-легочной и конотрункальной перегородки.

В экспериментах на куриных эмбрионах также было обнаружено, что хемокиновый стромальный клеточный фактор (SDF1) и его родственный рецептор $Cxcr4$ важны для миграции в сердце клеток сердечного нейрального гребня. Было показано, что SDF1 действует как хемоаттрактант. Нарушение сигнализации SDF1 вызывало сердечные аномалии, в т.ч. неполное септирование аорты, легочного ствола и дефекты межжелудочковой перегородки [22].

Камеры сердца

В ходе завершения процесса формирования сердечной петли, начинается дифференцировка отделов сердца на два предсердия и два желудочка. Появление предсердий начинается с появления перегородки с дорсокраниальной стенки предсердия на стадии 14 по Гамбургеру-Гамильтону. В экспериментах на куриных эмбрионах было выявлено, что миокардиально-эндокардиальные взаимодействия координируют формирование клапанов [23], которые регулируют кровоток в сердце. Кроме того, полимеразная цепная реакция микроРНК выявила профили их экспрессии в предсердных, желудочковых и атриовентрикулярных областях развивающегося сердца цыпленка. В частности, $miR-23b$, $miR-199a$ и $miR-15a$ имели повышенную экспрессию во время раннего развития атриовентрикулярного канала, а анализ генов-мишеней свидетельствует о том, что они участвуют в регуляции путей передачи ЭМП [24].

Стенки камер сердца также подвергаются морфологическим изменениям. Внача-

ле миокардиальный слой стенок желудочков образует выпячивания, называемые трабекулами, которые выступают в просвет камеры и покрываются слоем эндокарда. Процесс образования трабекул начинается со стадии 16 по Гамбургеру-Гамильтону. На протяжении всех стадий эмбрионального развития, увеличенная площадь поверхности сердца, создаваемая трабекулами, играет важную роль в васкуляризации и процессе доставки кислорода к сердцу.

Гемодинамика и ангиогенез

Куриный эмбрион, благодаря доступности для наблюдения и различных манипуляций, играл важную роль в ранних описаниях сосудистой системы позвоночных, сделанных Уильямом Гарвеем и Марчелло Мальпиги. С современными неинвазивными системами визуализации куриный эмбрион служит надежной моделью для мониторинга сосудистой сети *in vivo*. Когда развивающийся куриный эмбрион освобождается из яйца и культивируется *ex ovo*, хориоаллантоисная оболочка естественным образом расширяется, обнажая его сосудистую сеть и обеспечивая удобный доступ для долгосрочных экспериментов по ее визуализации.

Характер кровотока в развивающемся сердце играет значительную роль в морфогенезе сердца. В ответ на воздействие силы тока крови, культивируемые сердечные эндотелиальные клетки, перестраивают свой цитоскелет и изменяют экспрессию генов [25]. Чтобы связать такого рода данные, полученные в условиях *in vitro* с интактным сердцем куриного эмбриона, применяется ряд методов количественного анализа внутрисердечных потоков *in vivo*. Используя визуализацию *in vivo*, было показано, что высокочастотные сдвиговые вихревые флуктуации в развивающемся сердце оказывают более существенные воздействия, чем это можно было бы ожидать в столь малых структурах при низких значениях числа Рейнольдса. Чтобы проверить значимость этих сдвиговых сил *in vivo*, проводились эксперименты с блокированием тока крови, что при-

водило к образованию сердец с аномальной третьей камерой, нарушением формирования сердечной петли и образования клапанов. Сходство этих дефектов с некоторыми врожденными пороками сердца свидетельствует о важности внутрисердечной гемодинамики как ключевого эпигенетического фактора в эмбриональном кардиогенезе [25].

Роль эпигеномной регуляции в формировании ССС куриного эмбриона

МикроРНК участвуют в регуляции таких биологических процессов как пролиферация клеток, дифференцировка, апоптоз и поддержание нормальной клеточной физиологии. Аберрантная экспрессия или делеция микроРНК связана с аномальной дифференцировкой кардиомиоцита, нарушением развития сердца и сердечной дисфункцией. Несколько микроРНК были обнаружены в сердечной мышце и клетках миотомов скелетных мышц куриных эмбрионов.

Последовательность *miR-1* играет важную роль, регулируя процесс кардиогенеза и миогенеза; *miR-1* транскрибируется генами *miR-1-1* и *miR-1-2* [26]. Обнаружить транскрипты *miR-1* удавалось в формирующейся сердечной трубке, начиная с дифференцировки кардиомиоцитов с 9-10 вплоть до стадии 22 по Гамбургеру-Гамильтону [26].

Избыточная экспрессия *miR-1* приводит к остановке формирования сердца, развитию тонкостенных желудочков и сердечной недостаточности, что обусловлено преждевременной дифференцировкой и пролиферацией дефектных кардиомиоцитов [27].

Дифференцировка клеток в сердце регулируется различными факторами транскрипции: *bHLH*, *hand1* и *hand2*, экспрессия которых регулирует развитие левого и правого желудочка, соответственно. Экспрессия фактора транскрипции *hand2* зависит от *isl-1*, а *hand1* – от *nkx2-5* [28]. *nkx2-5* взаимодействует с семейством транскрипционных факторов *t-box* и является одним из элементов активации или

подавлении экспрессии генов, необходимых для дифференциации структур сердца. Выраженность экспрессии фактора *nkx2-5* не существенна для образования синусового узла [29]. Однако, взаимодействие *nkx2-5* с *tbx2* или *tbx3* приводит к репрессии гена, регулирующего предсердный натрийуретический пептид и коннексина-40 во время дифференцировки проводящей системы сердца, в том числе синоатриального узла [30,31].

Заключение

Таким образом, эксперименты, позволяющие изучать развитие сердечно-сосудистой системы на ранних этапах онтогенеза, представляются весьма перспективными источниками информации для создания теоретической основы знаний о врожденной патологии системы кровообращения.

Использование куриных эмбрионов заложило основу для экспериментального изучения физиологии и патологии разви-

тия сердечно-сосудистой системы. Благодаря накопленному теоретическому и экспериментальному материалу о закономерностях развития куриного эмбриона и его органов, стало возможным изучение этиологии и патогенеза многих сердечно-сосудистых заболеваний. Работа с куриными эмбрионами заложила основу для получения человеком знаний в области эмбриогенеза сердечно-сосудистой системы – о формировании миокарда, эпикарда, эндокарда, коронарного сосудистого русла, камер сердца и магистральных сосудов.

С развитием новых биомедицинских технологий, в первую очередь методик прижизненной визуализации, расширился круг возможных вмешательств на сердечно-сосудистую систему куриного эмбриона. С учетом указанных преимуществ и совершенствования экспериментальных методик, модели на основе куриных эмбрионов не теряют актуальность и по сегодняшний день.

Литература

- Patten I., Kulesa P., Shen M.M., et al. Distinct modes of floor plate induction in the chick embryo // *Development*. 2003. Vol. 130, №20. P. 4809-4821. doi:10.1242/dev.00694
- Taber L.A. Biomechanics of growth, remodeling, and morphogenesis // *Applied Mechanics Reviews*. 1995. Vol. 48, №8. P. 487-545. doi:10.1115/1.3005109
- Tomanek R.J. Developmental progression of the coronary vasculature in human embryos and fetuses // *The Anatomical Record*. 2016. Vol. 299, №1. P. 25-41. doi:10.1002/ar.23283
- Germani A., Foglio E., Capogrossi M.C., et al. Generation of cardiac progenitor cells through epicardial to mesenchymal transition // *Journal of Molecular Medicine*. 2015. Vol. 93, №7. P. 735-748. doi:10.1007/s00109-015-1290-2
- Ishii Y., Reese D.E., Mikawa T. Somatic transgenesis using retroviral vectors in the chicken embryo // *Developmental Dynamics*. 2004. Vol. 229, №3. P. 630-642. doi:10.1002/dvdy.10484
- Perez-Pomares J.M., Carmona R., Gonzalez-Iriarte M., et al. Origin of coronary endothelial cells from epicardial mesothelium in avian embryos // *International Journal of Developmental Biology*. 2002. Vol. 46, №8. P. 1005-1013.
- Masters M., Riley P.R. The epicardium signals the way towards heart regeneration // *Stem Cell Research*. 2014. Vol. 13, №3, Part B. P. 683-692. doi:10.1016/j.scr.2014.04.007
- Chen T., You Y., Jiang H., et al. Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT): A Biological Process in the Development, Stem Cell Differentiation, and Tumorigenesis // *Journal of Cellular Physiology*. 2017. Vol. 232, №12. P. 3261-3272. doi:10.1002/jcp.25797
- Dusi V., Ghidoni A., Ravera A., et al. Chemokines and heart disease: a network connecting cardiovascular biology to immune and autonomic nervous systems // *Mediators of Inflammation*. 2016. Vol. 2016. doi:10.1155/2016/5902947
- Markwald R.R., Fitzharris T.P., Smith W.N. Structural analysis of endocardial cytodifferentiation // *Developmental Biology*. 1975. Vol. 42, №1. P. 160-180. doi:10.1016/0012-1606(75)90321-8
- Bernanke D.H., Markwald R.R. Effects of hyaluronic acid on cardiac cushion tissue cells in collagen matrix cultures // *Texas Reports on Biology and Medicine*. 1979. Vol. 39. P. 271-285.
- Barnett J.V., Desgrosellier J.S. Early events in valvulogenesis: a signaling perspective // *Birth Defects Research, Part C: Embryo Today: Reviews*. 2003. Vol. 69, №1. P. 58-72. doi:10.1002/bdrc.10006

13. De Laughter D.M., Saint-Jean L., Baldwin H.S., et al. What chick and mouse models have taught us about the role of the endocardium in congenital heart disease // *Birth Defects Research, Part A: Clinical and Molecular Teratology*. 2011. Vol. 91, №6. P. 511-525. doi:10.1002/bdra.20809
14. Potts J.D., Runyan R.B. Epithelial-mesenchymal cell transformation in the embryonic heart can be mediated, in part, by transforming growth factor β // *Developmental Biology*. 1989. Vol. 134, №2. P. 392-401. doi:10.1016/0012-1606(89)90111-5
15. Selleck M.A.J. Culture and microsurgical manipulation of the early avian embryo. *Methods in cell biology* // Academic Press. 1996. Vol. 51. P. 1-21. doi:10.1016/S0091-679X(08)60620-2
16. Desgrosellier J.S., Mundell N.A., Mc Donnell M.A., et al. Activin receptor-like kinase 2 and Smad6 regulate epithelial-mesenchymal transformation during cardiac valve formation // *Developmental Biology*. 2005. Vol. 280, №1. P. 201-210. doi:10.1016/j.ydbio.2004.12.037
17. Mikawa T., Fischman D.A. Retroviral analysis of cardiac morphogenesis: discontinuous formation of coronary vessels // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1992. Vol. 89, №20. P. 9504-9508. doi:10.1073/pnas.89.20.9504
18. Nishibatake M., Kirby M.L., Van Mierop L.H. Pathogenesis of persistent truncus arteriosus and dextroposed aorta in the chick embryo after neural crest ablation // *Circulation*. 1987. Vol. 75, №1. P. 255-264. doi:10.1161/01.CIR.75.1.255
19. Bockman D.E., Kirby M.L. Dependence of thymus development on derivatives of the neural crest // *Science*. 1984. Vol. 223, №4635. P. 498-500.
20. Le Douarin N.M., Creuzet S., Couly G., et al. Neural crest cell plasticity and its limits // *Development*. 2004. Vol. 131, №19. P. 4637-4650. doi:10.1242/dev.01350
21. Escot S., Blavet C., Härtle S., et al. Misregulation of SDF1-CXCR4 signaling impairs early cardiac neural crest cell migration leading to conotruncal defects // *Circulation Research*. 2013. Vol. 113, №5. P. 505-516. doi:10.1161/CIRCRESAHA.113.301333
22. Bressan M., Yang P.B., Louie J.D., et al. Reciprocal myocardial-endocardial interactions pattern the delay in atrioventricular junction conduction // *Development*. 2014. Vol. 141, №21. P. 4149-4157. doi:10.1242/dev.110007
23. Bonet F., Dueñas Á., López-Sánchez C., et al. MiR-23b and miR-199a impair epithelial-to-mesenchymal transition during atrioventricular endocardial cushion formation // *Developmental Dynamics*. 2015. Vol. 244, №10. P. 1259-1275. doi:10.1002/dvdy.24309
24. Hove J.R., Köster R.W., Forouhar A.S., et al. Intracardiac fluid forces are an essential epigenetic factor for embryonic cardiogenesis // *Nature*. 2003. Vol. 421, №6919. P. 172-177. doi:10.1038/nature01282
25. Kloosterman W.P., Plasterk R.H. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease // *Developmental Cell*. 2006. Vol. 11, №4. P. 441-450. doi:10.1016/j.devcel.2006.09.009
26. Espinoza-Lewis R.A., Wang D.Z. MicroRNAs in heart development // *Current Topics in Developmental Biology*. Academic Press. 2012. Vol. 100. P. 279-317. doi:10.1016/B978-0-12-387786-4.00009-9
27. Buckingham M., Meilhac S., Zaffran S. Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells // *Nature Reviews Genetics*. 2005. Vol. 6, №11. P. 826-837. doi:10.1038/nrg1710
28. Blaschke R.J., Hahurij N.D., Kuijper S., et al. Targeted mutation reveals essential functions of the homeodomain transcription factor Shox2 in sinoatrial and pacemaker development // *Circulation*. 2007. Vol. 115, №14. P. 1830-1838. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.637819
29. Habets P.E., Moorman A.F., Clout D.E., et al. Co-operative action of Tbx2 and Nkx2. 5 inhibits ANF expression in the atrioventricular canal: implications for cardiac chamber formation // *Genes & Development*. 2002. Vol. 16, №10. P. 1234-1246. doi:10.1101/gad.222902
30. Tomanek R.J. Developmental progression of the coronary vasculature in human embryos and fetuses // *The Anatomical Record*. 2016. Vol. 299, №1. P. 25-41. doi:10.1002/ar.23283

References

1. Patten I, Kulesa P, Shen MM, et al. Distinct modes of floor plate induction in the chick embryo. *Development*. 2003;130(20):4809-21. doi:10.1242/dev.00694
2. Taber LA. Biomechanics of growth, remodeling, and morphogenesis. *Applied Mechanics Reviews*. 1995;48(8):487-545. doi:10.1115/1.3005109
3. Tomanek RJ. Developmental progression of the coronary vasculature in human embryos and fetuses. *The Anatomical Record*. 2016;299(1):25-41. doi:10.1002/ar.23283
4. Germani A, Foglio E, Capogrossi MC, et al. Generation of cardiac progenitor cells through epicardial to mesenchymal transition. *Journal of Molecular Medicine*. 2015;93(7):735-48. doi:10.1007/s00109-015-1290-2
5. Ishii Y, Reese DE, Mikawa T. Somatic transgenesis using retroviral vectors in the chicken embryo. *Developmental Dynamics*. 2004;229(3):630-42. doi:10.1002/dvdy.10484
6. Perez-Pomares JM, Carmona R, Gonzalez-Iriarte M, et al. Origin of coronary endothelial cells from epicardial mesothelium in avian embryos. *International Journal of Developmental Biology*. 2002;46(8):1005-13.
7. Masters M, Riley PR. The epicardium signals the way towards heart regeneration. *Stem Cell Research*. 2014;13(3, Pt. B):683-92. doi:10.1016/j.scr.2014.04.007
8. Chen T, You Y, Jiang H, et al. Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT): A Biological Process in the De-

- velopment, Stem Cell Differentiation, and Tumorigenesis. *Journal of Cellular Physiology*. 2017; 232(12):3261-72. doi:10.1002/jcp.25797
9. Dusi V, Ghidoni A, Ravera A, et al. Chemokines and heart disease: a network connecting cardiovascular biology to immune and autonomic nervous systems. *Mediators of Inflammation*. 2016;2016. doi:10.1155/2016/5902947
 10. Markwald RR, Fitzharris TP, Smith WN. Structural analysis of endocardial cytodifferentiation. *Developmental Biology*. 1975;42(1):160-80. doi:10.1016/0012-1606(75)90321-8
 11. Bernanke DH, Markwald RR. Effects of hyaluronic acid on cardiac cushion tissue cells in collagen matrix cultures. *Texas Reports on Biology and Medicine*. 1979;39:271-85.
 12. Barnett JV, Desgrosellier JS. Early events in valvulogenesis: a signaling perspective. *Birth Defects Research, Part C: Embryo Today: Reviews*. 2003; 69(1):58-72. doi:10.1002/bdrc.10006
 13. De Laughter DM, Saint-Jean L, Baldwin HS, et al. What chick and mouse models have taught us about the role of the endocardium in congenital heart disease. *Birth Defects Research, Part A: Clinical and Molecular Teratology*. 2011;91(6):511-25. doi:10.1002/bdra.20809
 14. Potts JD, Runyan RB. Epithelial-mesenchymal cell transformation in the embryonic heart can be mediated, in part, by transforming growth factor β . *Developmental Biology*. 1989;134(2):392-401. doi:10.1016/0012-1606(89)90111-5
 15. Selleck MAJ. Culture and microsurgical manipulation of the early avian embryo. *Methods in cell biology*. Academic Press. 1996;51:1-21. doi:10.1016/S0091-679X(08)60620-2
 16. Desgrosellier JS, Mundell NA, Mc Donnell MA, et al. Activin receptor-like kinase 2 and Smad6 regulate epithelial-mesenchymal transformation during cardiac valve formation. *Developmental Biology*. 2005;280(1):201-10. doi:10.1016/j.ydbio.2004.12.037
 17. Mikawa T, Fischman DA. Retroviral analysis of cardiac morphogenesis: discontinuous formation of coronary vessels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1992;89(20):9504-8. doi:10.1073/pnas.89.20.9504
 18. Nishibatake M, Kirby ML, Van Mierop LH. Pathogenesis of persistent truncus arteriosus and dextroposed aorta in the chick embryo after neural crest ablation. *Circulation*. 1987;75(1):255-64. doi:10.1161/01.CIR.75.1.255
 19. Bockman DE, Kirby ML. Dependence of thymus development on derivatives of the neural crest. *Science*. 1984;223(4635):498-500.
 20. Le Douarin NM, Creuzet S, Couly G, et al. Neural crest cell plasticity and its limits. *Development*. 2004;131(19):4637-50. doi:10.1242/dev.01350
 21. Escot S, Blavet C, Härtle S, et al. Misregulation of SDF1-CXCR4 signaling impairs early cardiac neural crest cell migration leading to conotruncal defects. *Circulation Research*. 2013;113(5):505-16. doi:10.1161/CIRCRESAHA.113.301333
 22. Bressan M, Yang PB, Louie JD, et al. Reciprocal myocardial-endocardial interactions pattern the delay in atrioventricular junction conduction. *Development*. 2014;141(21):4149-57. doi:10.1242/dev.110007
 23. Bonet F, Dueñas Á, López-Sánchez C, et al. MiR-23b and miR-199a impair epithelial-to-mesenchymal transition during atrioventricular endocardial cushion formation. *Developmental Dynamics*. 2015; 244(10):1259-75. doi:10.1002/dvdy.24309
 24. Hove JR, Köster RW, Forouhar AS, et al. Intracardiac fluid forces are an essential epigenetic factor for embryonic cardiogenesis. *Nature*. 2003;421(6919):172-7. doi:10.1038/nature01282
 25. Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Developmental Cell*. 2006;11(4):441-50. doi:10.1016/j.devcel.2006.09.009
 26. Espinoza-Lewis RA, Wang DZ. MicroRNAs in heart development. *Current Topics in Developmental Biology*. Academic Press. 2012;100:279-317. doi:10.1016/B978-0-12-387786-4.00009-9
 27. Buckingham M, Meilhac S, Zaffran S. Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells. *Nature Reviews Genetics*. 2005; 6(11):826-37. doi:10.1038/nrg1710
 28. Blaschke RJ, Hahurij ND, Kuijper S, et al. Targeted mutation reveals essential functions of the homeodomain transcription factor Shox2 in sinoatrial and pacemaker development. *Circulation*. 2007;115(14):1830-8. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.106.637819
 29. Habets PE, Moorman AF, Clout DE, et al. Cooperative action of Tbx2 and Nkx2.5 inhibits ANF expression in the atrioventricular canal: implications for cardiac chamber formation. *Genes&Development*. 2002;16(10):1234-46. doi:10.1101/gad.222902
 30. Tomanek RJ. Developmental progression of the coronary vasculature in human embryos and fetuses. *The Anatomical Record*. 2016;299(1):25-41. doi:10.1002/ar.23283

Дополнительная информация [Additional Info]

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить, в связи с публикацией данной статьи. [Conflict of interests. The authors declare no actual and potential conflict of interests which should be stated in connection with publication of the article.]

Участие авторов. Каде А.Х. – концепция работы, редактирование, Трофименко А.И., Турова А.Ю. – написание текста, редактирование, Певзнер Д.А., Лазарев В.В., Лысов Е.Е., Погосян С.А., Минина Я.И. – сбор материала, перевод. [Participation of authors. A.Kh. Kade – concept of work, editing, A.I. Trofimenko, A.Yu. Turova – writing the text, editing, D.A. Pevzner, V.V. Lazarev, E.E. Lysov, S.A. Pogosyan, Y.I. Minina – collections of material, translation.]

Информация об авторах [Authors Info]

Каде Азамат Халидович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, Россия. [Azamat Kh. Kade – MD, PhD, Professor, Head of the Department of General and Clinical Pathological Physiology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.]
SPIN: 1415-7612, ORCID ID: 0000-0002-0694-9984, Researcher ID: R-6536-2017.

***Трофименко Артем Иванович** – к.м.н., ассистент кафедры общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, Россия. [Artem I. Trofimenko – MD, PhD, Assistant of the Department of General and Clinical Pathological Physiology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.]
SPIN: 8810-2264, ORCID ID: 0000-0001-7140-0739, Researcher ID: R-3176-2017. E-mail: artemtrofimenko@mail.ru

Турова Алла Юрьевна – к.м.н., доцент кафедры общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, Россия. [Alla Yu. Turova – MD, PhD, Associate Professor of the Department of General and Clinical Pathological Physiology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.]
SPIN: 7544-1897, ORCID ID: 0000-0001-5236-308X, Researcher ID: O-5297-2018.

Певзнер Давид Аркадьевич – студент ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, Россия. [David A. Pevzner – student of Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.]
SPIN: 8764-8719, ORCID ID: 0000-0003-0232-0334, Researcher ID: O-2206-2018.

Лазарев Вениамин Викторович – студент ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, Россия. [Veniamin V. Lazarev – student of Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.]
SPIN: 8934-9330, ORCID ID: 0000-0002-8047-2707, Researcher ID: O-3173-2018.

Лысов Евгений Евгеньевич – студент ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, Россия. [Evgeny E. Lysov – student of Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.]
SPIN: 7922-2618, ORCID ID: 0000-0002-9743-0394, Researcher ID: O-2214-2018.

Погосян Светлана Армановна – студент ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, Россия. [Svetlana A. Pogosyan – student of Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.]
SPIN: 9142-4493, ORCID ID: 0000-0003-4922-8949, Researcher ID: O-2674-2018.

Минина Яна Игоревна – студент ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, Россия. [Yana I. Minina – student of Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.]
SPIN: 4745-2972, ORCID ID: 0000-0003-2250-0105, Researcher ID: O-3409-2018.

Цитировать: Каде А.Х., Трофименко А.И., Турова А.Ю., Певзнер Д.А., Лазарев В.В., Лысов Е.Е., Погосян С.А., Минина Я.И. Куриный эмбрион как объект эксперимента для изучения развития сердечно-сосудистой системы // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2018. Т. 26, №4. С. 538-546. doi:10.23888/PAVLOVJ2018264538-546

To cite this article: Kade AKh, Trofimenko AI, Turova AYu, Pevzner DA, Lazarev VV, Lysov EE, Pogosyan SA, Minina YaI. Chick embryo as an experimental object for studying development of cardiovascular system. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2018;26(4):538-46. doi:10.23888/PAVLOVJ2018264538-546

Поступила/Received: 30.07.2018
Принята в печать/Accepted: 12.12.2018