

ОБЗОР

УДК 612.172.2

Молекулярные механизмы онтогенеза ритмоводителя сердца
у позвоночных животныхВ.С. Кузьмин* , А.А. Каменский*Кафедра физиологии человека и животных, биологической факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12***e-mail: kuzmin@mail.bio.msu.ru*

Небольшая группа миокардиальных клеток, формирующая естественный доминирующий пейсмейкер (ритмоводитель) сердца в т.н. синоатриальном узле (САУ), обеспечивает автоматическую ритмическую работу сердца животных, включая человека, на протяжении всей жизни. Для пейсмейкера сердца характерна специфическая гистологическая организация, особый паттерн экспрессии множества генов, определяющих электрофизиологический фенотип составляющих его кардиомиоцитов. Функциональное созревание пейсмейкера сердца происходит в ходе всего эмбрионального периода развития, начиная с самых ранних стадий. Понимание закономерностей происхождения ритмоводителя сердца и молекулярных механизмов, контролирующих его развитие, приближает к созданию искусственных биологических пейсмейкеров, осмыслению причин формирования многих сердечно-сосудистых патологий, в особенности — генетически обусловленных, связанных с дефектами развития, или приобретенных нарушений ритма сердца. Исследование эмбриогенеза САУ способствует решению проблемы репрограммирования кардиомиоцитов или соматических клеток с целью клеточной терапии при сердечно-сосудистых заболеваниях, реверсии ремоделирования миокарда. К настоящему времени достигнут значительный прогресс в понимании генетических и молекулярных путей, определяющих идентичность пейсмейкерных клеток и управляющих формированием доминирующего пейсмейкера сердца в ходе онтогенеза. В данном обзоре приведены сведения о ключевых группах транскрипционных факторов, молекулярных регуляторных каскадах (белков BMP, Wnt, Wt1, Slit/Robo, RhoA, подопланин, VEGF, PDGF), участвующих в (эпи)генетическом контроле развития пейсмейкерных кардиомиоцитов и определении их электрофизиологического фенотипа.

Ключевые слова: сердце, пейсмейкер, венозный синус, синоатриальный узел, онтогенез, транскрипционный контроль, автоматия, электрофизиологический фенотип, обзор

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВКП — второе кардиогенное поле
 ВС — венозный синус
 ИПСК — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки
 ПКП — первое кардиогенное поле
 САК — синоатриальный клапан
 САУ — синоатриальный узел
 ТФ — транскрипционный фактор
 ЭМП — эпителиально-мезенхимальный переход
 AP-1 (activator protein 1) — гетеродимерный транскрипционный фактор «немедленного ответа»
 BMP (bone morphogenic protein) — костный морфогенетический протеин
 DKK1 (dickkopf-related protein) — белок-ингибитор Wnt-сигнализации семейства Dickkopf
 FGF (fibroblasts growth factor) — фактор роста фибробластов
 Frizzled — семейство мембранных рецепторов Wnt
 HCN (hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channels) — активируемые гиперполяризацией, управляемые циклическими нуклеотидами катионные каналы
 I_f (funny current) — «пейсмейкерный» катионный деполярирующий ток, формируемый каналами семейства HCN

Isl1 — гомеодоменный транскрипционный фактор, содержащий LIM-домен, известный как энхансер гена инсулина
 JNK — киназа c-Jun
 Mef2c (myocyte enhancer factor 2) — миоцит-специфический энхансерный фактор-2
 MesP1 (mesoderm posterior 1 homolog) — мезодермальный транскрипционный фактор
 Nkx2.5 (NK2 гомеобокс 5) — гомеодоменный транскрипционный фактор
 PDGF (platelet-derived growth factor) — тромбоцитарный фактор роста
 Pitx2c (paired-like homeodomain 2) — гомеодоменный транскрипционный фактор
 Raldh2 — ретинальдегид дегидрогеназа 2
 RhoA — белок А гомологов семейства Ras
 Robo (roundabout) — рецепторы семейства «круговых перекрестков»
 Shox2 — гомеобоксный транскрипционный фактор, ассоциированный с низкорослостью
 TBX — транскрипционные факторы семейства T-box
 VEGF — (vascular endothelial growth factor) эндотелиальный фактор роста сосудов
 Wt1 (Wilms tumor 1) — супрессор нефробластомы Вильмса; транскрипционный фактор

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Введение	184
2. Морфогенез пейсмекера сердца	185
2.1. Ранние этапы кардиогенеза	185
2.2. Автоматическая активность первичной сердечной трубки	185
2.3. Второе кардиогенное поле как источник прокардиогенных клеток-предшественников венозного полюса сердца	187
2.4. Молекулярные маркеры мезодермы кардиогенных полей и САУ	187
2.5. Морфогенез венозного синуса	188
2.6. Атриализация венозного синуса у млекопитающих животных	188
2.7. Формирование дефинитивного пейсмекера сердца у позвоночных животных	189
2.8. Асимметричная локализация САУ у млекопитающих	190
3. Молекулярный контроль генетических программ эмбриогенеза венозного синуса и САУ	191
3.1. Транскрипционные факторы Nkx2.5/GATA4/TBX5 и Shox2 в контроле развития венозного синуса и САУ	191
3.2. Миокардиальные морфогены семейства BMP	191
3.3. Сигнальные белки семейства Wnt; Wnt/ β -катениновый и Wnt/JNK-путь в морфогенезе САУ	192
3.4. Белок Wt1	192
3.5. Сигнальный каскад Slit/Robo	193
3.6. Подопланин	194
3.7. Сигнальный каскад малых ГТФаз RhoA/Rock	194
3.8. Эндотелиальный фактор роста сосудов	194
3.9. Фактор роста тромбоцитов	195
Список литературы	196

1. Введение

Сердце обеспечивает циркуляцию крови в организме на протяжении всей жизни, начиная с самых ранних этапов пренатального онтогенеза. Насосная функция сердца реализуется за счет ритмического координированного чередования возбуждения, сокращения и расслабления его камер. Ритмическое возбуждение сердца возможно благодаря небольшой группе миоцитов, обладающих особыми электрофизиологическими свойствами. Для всех позвоночных животных характерен миогенный тип автоматии сердца. У млекопитающих животных эти специализированные кардиомиоциты располагаются в стенке правого предсердия между устьями верхней (правой крапильной) и нижней (задней) полых вен, формируя доминантный пейсмекер (или «ритмоводитель») сердца, называемый по месту его локализации синоатриальным узлом (далее САУ).

Формирование пейсмекера сердца в ходе эмбриогенеза критически важно для его нормальной работы и выживания организма. Онтогенетические нарушения формирования пейсмекерной функции сопряжены со множеством патологий сердечно-сосудистой системы. К настоящему времени многие аспекты регуляции развития пейсмекера сердца, становления специфического «электрофизиологического фенотипа» его миоцитов раскрыты. В данном обзоре рассмотрены молекулярные механизмы, определяющие формирование и становление пейсмекерной функции в ходе онтогенеза. Следует отметить, что дефинитивный

пейсмекер САУ является сложной тканевой структурой, включающей специализированные «пейсмекерные» кардиомиоциты, элементы соединительной ткани и резидентные иммунные клетки. Будут приведены сведения, касающиеся только онтогенеза миокардиальной составляющей пейсмекера сердца, хотя несомненно, что остальные клеточные составляющие, служащие элементами микроокружения пейсмекерных кардиомиоцитов, влияют на его развитие и функцию [1].

Кардиогенез является многоэтапным процессом, в который вовлечены несколько структур, являющихся источником клеток-предшественников кардиомиоцитов, и различается на поздних этапах эмбрионального развития у разных позвоночных животных. Поэтому анатомическая организация дефинитивного пейсмекера сердца в классе позвоночных животных кажется многообразной и в ряде случаев не до конца изучена: у костистых рыб пейсмекером является кольцевая структура, окружающая синоатриальный клапан (САК); у амфибий пейсмекерными свойствами обладают участки стенки венозного синуса (ВС). Тем не менее ранние этапы кардиогенеза и эмбриогенеза пейсмекера у низших позвоночных (эктотермов), птиц и млекопитающих в значительной степени сходны [2]. Подавляющая часть данных о транскрипционном и молекулярном контроле развития пейсмекера получена при использовании эмбрионов курицы или мыши. Как оказалось, механизмы, регулирующие развитие пейсмекера сердца, консервативны среди амниот и, вероятно, среди

всех позвоночных животных, так как определяются одинаковыми (эпи)генетическими программами и группами регуляторных факторов. Поэтому представленные ниже результаты экспериментальных исследований могут быть распространены на всех позвоночных животных и транслированы на онтогенез САУ человека [3, 4].

2. Морфогенез пейсмейкера сердца

2.1. Ранние этапы кардиогенеза

Освещение вопроса формирования пейсмейкера сердца невозможно без рассмотрения раннего эмбрионального кардиогенеза. Сердце у всех позвоночных животных имеет мезодермальное происхождение. Мультипотентные клетки-предшественники сердца определяются на самых ранних этапах эмбриогенеза. У всех амниот, и у млекопитающих, в частности, индукция и спецификация кардиогенных клеток происходят на стадии формирования эпибласта («зародышевого щитка»). Кардиогенные клетки, являющиеся предшественниками как кардиомиоцитов, так и гладкомышечных клеток и эндотелиоцитов, теряя белки клеточных контактов (например, E-кадгерин) [5], под действием продуктов генов «заднего конца тела» – *Nodal* и *Vg1* и т.д. [6], сигнальных каскадов, активируемых белками семейства *Wnt* [7, 8], *BMP* [9], ряда других морфогенетических факторов (*FGF-1, 2, 8*) [10], мигрируют из двух симметричных, билатерально расположенных участков эпибласта через стенки первичной бороздки и гензеновского узелка в пространство над формирующейся энтодермой, где становятся кардиогенной частью мезодермы. У человека билатерально симметричные кардиогенные участки мезодермы слиты по срединной линии в серпообразную структуру – «сердечный полумесяц», или «серп» [11]. После миграции кардиогенные клетки остаются тесно сближенными с энтодермой, которая продуцирует «кардиогенные» факторы.

При дальнейшем развитии кардиогенные клетки локализуются в передней части висцерального листка бокового (латерального) отдела мезодермы. Вскоре после формирования висцеральной кардиогенной мезодермы в ней идентифицируются т.н. кардиогенные поля – *первое и второе*, согласно классическим представлениям. Мезодермальные и мезенхимальные клетки, происходящие из билатеральных участков первого кардиогенного поля (ПКП), формируют *первичную сердечную трубку*, характерную для всех позвоночных животных [12]. Объединение двух мезодермальных зачатков приводит к тому, что сердечная трубка оказывается окружена перикардальной (целомической) полостью. Удлинение и утолщение стенок сердечной трубки, формирование отделов сердца происходят за счет включения выселяющихся и дифференцирующихся ме-

зенхимальных клеток из висцеральной мезодермы. Миграция клеток мезодермы становится возможной благодаря их «деэпителизации» — индукции т.н. эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП). Рабочий миокард левого желудочка, часть миокарда правого и левого предсердий зрелого сердца, но не пейсмейкерный миокард ВС или САУ являются производными первичной сердечной трубки, то есть формируются за счет мезодермы, происходящей из ПКП.

2.2. Автоматическая активность первичной сердечной трубки

Сердце является органом, наиболее рано в онтогенезе проявляющим свою функцию. Непосредственно после объединения мезодермальных зачатков в сердечный полумесяц в слабо дифференцированных кардиомиоцитах («кардиобластах») начинается сборка саркомеров, экспрессия мембранных ионных переносчиков и ионных каналов, в частности, белков натрий-кальциевого обменника, белков кальциевых каналов L-типа. Кардиогенные клетки у мыши уже на стадии E7.75-E8 демонстрируют способность к автоматической активности – спонтанно, ритмически генерируют цитоплазматические Ca^{2+} -волны и, соответственно, потенциалы действия [13]. Позже, после формирования сердечной трубки, «первичный» миокард, состоящий всего лишь из двух-трех клеточных слоев, проявляет способность спонтанно сокращаться [14]. Спонтанная электрическая активность возникает при этом в области венозного (заднего) конца, индуцируя сокращения перистальтического характера, что определяет направленное движение крови от приносящего к выносящему тракту сердечной трубки [15]. Считается, что предрасположенность к начальной активации венозного конца сердечной трубки обусловлена кранио-каудальным градиентом концентрации морфогенетических факторов – ретиноевой кислоты, синтезируемой задней мезодермой; градиентом активности белков семейства *Wnt, BMP, FGF* [16].

Автоматия сердечной трубки никак не связана с активностью неких зачатков пейсмейкера зрелого сердца (САК, САУ). В настоящее время, в противоположность взглядам, сформировавшимся в 1990-х гг., установлено, что первичная сердечная трубка не содержит всех элементов зрелого сердца, в том числе и зачатков пейсмейкера сердца в «миниатюрном» виде [17]. Миоциты как сердечной трубки, так и САУ экспрессируют активируемые гиперполяризацией, управляемые циклическими нуклеотидами ионные каналы (HCN), формирующие «пейсмейкерный» ток I_f [18, 19]. Деполяризующий ионный ток I_f [20], обусловленный преимущественно HNC4, является одним из механизмов, обеспечивающих т.н. медленную

диастолическую деполяризацию, делающую возможным спонтанное возникновение потенциалов действия в пейсмекерных клетках [21, 22]. Кра́но-каудальный градиент экспрессии HCN4 наблюдается уже на стадии сердечного серпа еще до формирования сердечной трубки [19].

Кардиомициты первичной сердечной трубки экспрессируют гомеодоменные транскрипционные факторы (ТФ), такие как Nkx2.5, Isl1 (Isl1 – транскрипционный фактор, содержащий LIM-домен), GATA-связывающие ТФ, например, GATA4, а также транскрипционные факторы семейства Т-box (TBX), например – TBX5.

Промиокардиальные клетки, происходящие из мезодермы ПКП, являются Nkx2.5-, Isl1-положительными, в то время как САУ происходит из группы клеток, являющихся Nkx2.5-, Isl1-негативными (рис. 1). Комплекс ТФ Nkx2.5/TBX5/GATA4 является ключевым для активации транскрипции генов, определяющих сократительные и электрофизиологические свойства, характерные для «рабочего» миокарда. Nkx2.5/TBX5/GATA4 вызывают подавление экспрессии каналов семейства HCN,

но стимулируют экспрессию генов белков сократительного аппарата, а также генов коннексинов высокой проводимости Sx40 (*Gja1*) и Sx43 (*Gja5*), потенциал-чувствительных натриевых каналов NaV1.5 (*Scn5a*), генов калиевых каналов Kir2.x (*Kcnj2*, *Kcnj12*). Каналы Kir2.x проводят калиевый ионный ток аномального выпрямления, который стабилизирует потенциал покоя и препятствует автоматической активности в кардиомиоцитах [23]. Как упомянуто выше, промиокардиальные клетки сердечной трубки в результате пролиферации формируют рабочий миокард левого желудочка и предсердий.

Предполагается, что в сердечной трубке репрессоры транскрипции TBX2, TBX3 до определенного момента кардиогенеза, а именно до начала формирования ВС, препятствуют работе комплекса Nkx2.5/TBX5/GATA4, а экспрессию HCN4 поддерживает Isl1 [24]. Следует отметить, что HCN-положительные клетки сердечной трубки экспрессируют также коннексины Sx40, характерные для рабочих кардиомиоцитов предсердий и желудочков [20], но не для САУ.

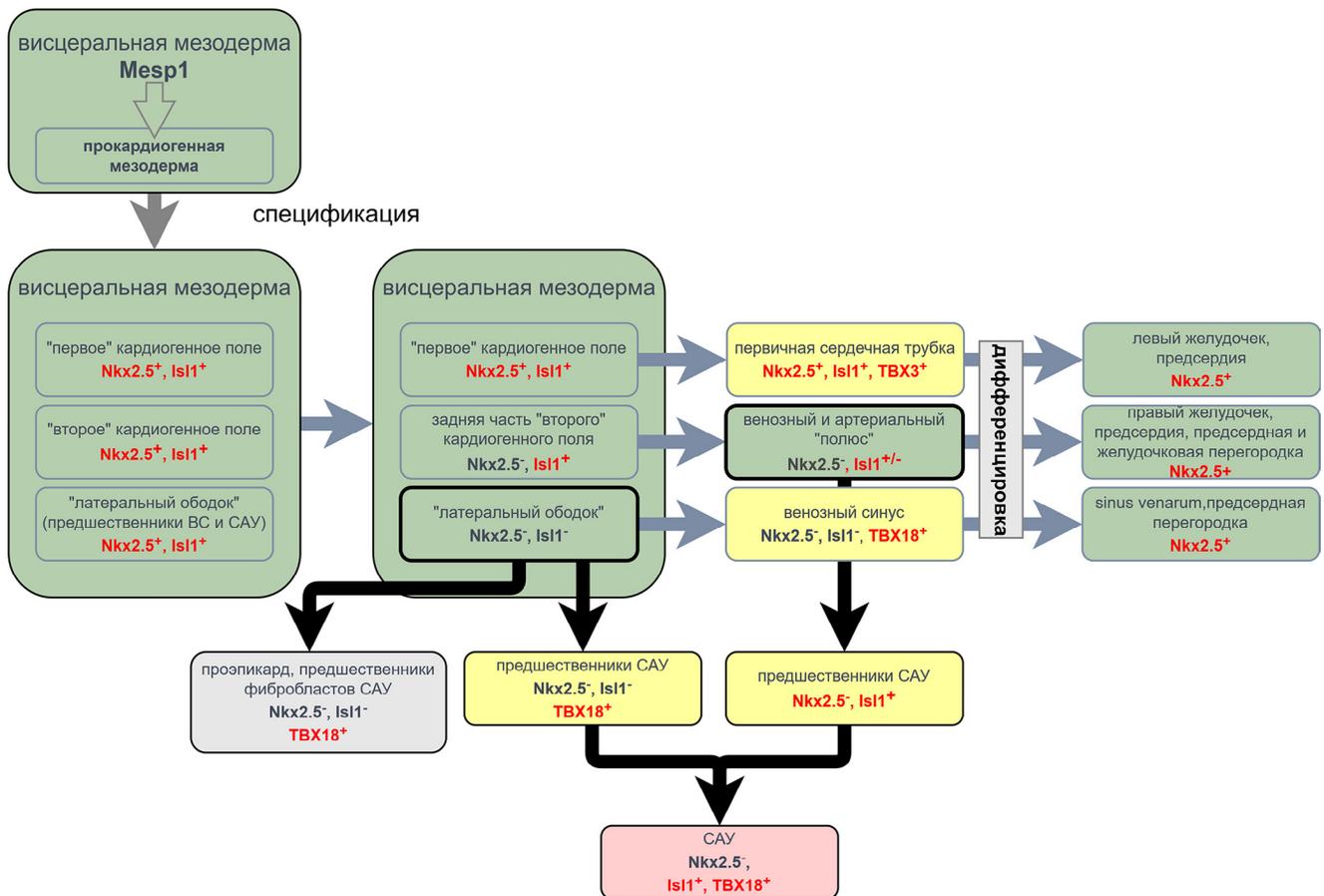


Рис. 1. Происхождение специализированных пейсмекерных кардиомиоцитов синоатриального узла (САУ) из мезодермальных кардиогенных полей в ходе эмбрионального развития, а также паттерн экспрессии ключевых транскрипционных факторов (ТФ: Mesp1, Nkx2.5, Isl1, TBX18, TBX3) в мезодермальных кардиогенных полях и происходящих из них клетках на разных этапах кардиогенеза у млекопитающих животных. Мезенхимальные предшественники, зрелые кардиомиоциты, а также фибробласты САУ, вероятно, происходят из двух пулов (Nkx2.5-/Isl1-/TBX18+ и Isl1+/Nkx2.5-) мезодермальных клеток.

Желтым и красным цветом показаны структуры, демонстрирующие автоматическую или пейсмекерную активность на разных этапах кардиогенеза. Экспрессируемый ТФ показан красным шрифтом; отсутствие экспрессии ТФ показано темным шрифтом.

Таким образом, для наиболее рано дифференцирующихся миоцитов сердечной трубки и кардиомиоцитов САУ характерен различный паттерн экспрессии ТФ, контролирующих электрофизиологические свойства. Кардиомиоциты первичной сердечной трубки не участвуют в автоматии, обеспечиваемой эмбриональным ВС или зрелым САУ [25]. Клетки-предшественники САУ обнаруживаются в эмбриональном сердце гораздо позже момента инициации спонтанных сокращений сердечной трубки.

2.3. Второе кардиогенное поле как источник прокардиогенных клеток-предшественников венозного полюса сердца

Одним из мезодермальных участков, служащих источником клеток-предшественников кардиомиоцитов, является *второе кардиогенное поле* (ВКП) [11, 26, 27]. Прокардиогенные клетки-предшественники мезодермы ВКП у млекопитающих идентифицируются уже в эпибласте. Мезодермальные билатерально симметричные участки ВКП располагаются медиальнее серповидной зоны первого поля [28]. Формирование кардиогенных мезенхимальных клеток из мезодермы ВКП за счет ЭМП, а также их миграция, пролиферация [29] и дифференцировка в кардиомиоциты в ходе онтогенеза происходят существенно дольше и позже, чем в ПКП. Мезенхимальные клетки выселяются из ВКП тогда, когда миграция клеток-предшественников первого поля уже закончена, они включены в стенку сердечной трубки и их дифференцировка направлена по миокардиальному пути. Формирование новых отделов сердца происходит за счет иммиграции клеток ВКП и соответствует началу фазы петлеобразного искривления сердечной трубки. Целый ряд структур сердца, включая ВС, САК, атриовентрикулярное соединение, правый желудочек и желудочковую перегородку, часть предсердий, предсердную перегородку, миокардиальную ткань стенки легочных и полых вен, формируется за счет мезенхимальных предшественников ВКП [30, 31].

Первичная сердечная трубка, располагаясь в целомической полости, остается связанной с висцеральной мезодермой посредством т.н. *дорзальной кардиогенной мезодермы* (или *дорзального мезокардия*) — продольного мезодермального тяжа, который формируется как результат преобразования ВКП. Позднее дорзальный мезодермальный тяз частично отделяется от сердечной трубки, сохраняя с ней связь только в области артериального и венозного концов (полюсов) и формируя, таким образом, передний и задний участки дорзальной мезодермы. Клетки этих двух зон активно делятся, мигрируют в область артериального и венозного полюсов сердечной трубки, где пролиферируют и дифференцируются в кардиомиоциты [32]. Согласно классическим представ-

лениям, формирование структур «венозного» и «артериального» полюсов эмбрионального сердца позвоночных происходит за счет переднего и заднего кардиогенных полей — отделов ВКП [28, 33]. Мезенхимальные клетки, выселяющиеся из заднего кардиогенного поля, начинают встраиваться в стенку первичной сердечной трубки позже, чем клетки переднего поля, поэтому структуры венозного полюса сердца, включая ВС, развиваются позже (у мышей — начиная с E9,5), чем структуры артериального полюса сердца [17].

Считалось, что заднее кардиогенное поле гомогенно и его клетки служат источником для всех структур венозного полюса сердца, включая эмбриональный ВС и САУ [34]. В настоящее время показано, что висцеральная мезодерма до стадии выделения полей более гетерогенна, чем предполагалось ранее, и в ней уже присутствуют отдельные группы прокардиогенных клеток, являющиеся предшественниками кардиомиоцитов только ВС или только САУ [35].

2.4. Молекулярные маркеры мезодермы кардиогенных полей и САУ

В настоящее время MesP1 рассматривается как ключевой фактор кардиогенной спецификации и пролиферации мезодермы (рис. 1) [36]. Предполагается, что именно MesP1 управляет группой регуляторных факторов, необходимых для раннего кардиогенеза. К MesP1-управляемым ТФ и регуляторным белкам относятся FGF8, FGF10, Isl1, Id2, GATA4/6, Mef2c, подоплантин, ТФ семейства TBX [37]. Клетки как ПКП, так и ВКП экспрессируют MesP1 и ТФ семейства GATA [38].

Множество факторов участвуют в транскрипционном контроле пролиферации и дифференцировки мезенхимальных клеток кардиогенной мезодермы. Однако ключевыми ТФ в определении судьбы кардиогенных клеток и их электрофизиологического фенотипа являются Nkx2.5, GATA4, Isl1, TBX2, 3, 5, 18, 20. В настоящее время установлено, что исходно все кардиогенные клетки висцеральной мезодермы экспрессируют Nkx2.5 [35]. Маркером всех мезенхимальных предшественников кардиомиоцитов является также Isl1 [24, 29, 30]. Таким образом, все прокардиогенные клетки кардиогенных полей изначально являются Isl1- и Nkx2.5-позитивными [39]. Ранее предполагалось, что клетки второго поля и, соответственно, клетки-предшественники ВС являются исходно Nkx2.5-негативными [40].

Еще до формирования сердечной трубки кардиогенная мезодерма разделяется на субпопуляции клеток, т.е. подвергается «паттернингу», по набору экспрессируемых ТФ. Мезодерма ПКП сохраняет экспрессию Isl1 и Nkx2.5 (однако после окончания формирования первичной сердечной трубки экспрессия Isl1 в кардиомиоцитах — «наследниках» первого поля — пропадает). Мезодерма

ВКП сохраняет экспрессию только *Isl1*, однако перед дифференцировкой клетки второго поля заново начинают экспрессировать *Nkx2.5*, а уровень *Isl1*, наоборот, снижается. Таким образом, классификация кардиогенных полей является весьма условной и они могут быть рассмотрены как домены мезодермы с меняющимся сложным образом в ходе эмбрионального развития профилем ТФ [35]. Именно паттерн экспрессии ТФ обуславливает спецификацию мезодермальных клеток как предшественников пейсмекерных кардиомиоцитов САУ или рабочих кардиомиоцитов предсердий и желудочков.

Происхождение пейсмекера сердца можно установить, проследив профиль экспрессии ТФ в кардиомиоцитах зрелого САУ и в клетках-предшественниках кардиогенной мезодермы. Установлено, что небольшая клеточная субпопуляция из периферии мезодермы сердечного полумесяца (т.н. *латерального ободка*) теряет экспрессию как *Isl1*, так и *Nkx2.5* до начала ЭМП и пролиферации мезенхимальных клеток, но начинает экспрессировать *TBX18*. Такие *Nkx2.5*⁻, *Isl1*-негативные, но *TBX18*-позитивные (*Nkx2.5*⁻/*Isl1*⁻/*TBX18*⁺) клетки являются предшественниками ВС и, возможно, предшественниками пейсмекера всех позвоночных животных. Показано, что у млекопитающих миокард САУ образован клетками, происходящими из двух разных субпопуляций: (1) *Isl1*-позитивными и *Nkx2.5*-негативными (*Isl1*⁺/*Nkx2.5*⁻) клетками второго (заднего) кардиогенного поля; (2) *Nkx2.5*⁻/*Isl1*⁻/*TBX18*⁺-клетками «латерального ободка» [35] (рис. 1). Важно, что клетки дефинитивного САУ сохраняют экспрессию ТФ *Isl1*, который, вероятно, необходим для поддержания пейсмекерного фенотипа и экспрессии *HCN4*. Кроме того, *Nkx2.5*⁻/*Isl1*⁻/*TBX18*⁺-клетки являются также предшественниками эпикарда, ткани коронарных сосудов, а также фибробластов сердца, которые играют важную роль в реализации функции САУ.

В настоящее время экспериментально подтверждено, что именно та часть мезенхимальных клеток, которая экспрессирует *TBX18*, мигрирует, пролиферирует и дифференцируется в кардиомиоциты примордиального САУ и составляет большую часть (75% клеток) зрелого САУ [20] млекопитающих, а удаление этих клеток на ранних эмбриональных этапах приводит к тому, что САУ не формируется.

2.5. Морфогенез венозного синуса

Венозный синус (*sinus venosus*) является первой структурой в ходе эмбрионального развития сердца, которую можно выделить в качестве отдельной камеры. У всех позвоночных животных ВС сначала отделен от формирующегося общего предсердия синоатриальным каналом, который преобразуется в САК. ВС формируется в результа-

те миокардиализации — иммиграции и встраивания мезенхимальных клеток, происходящих из ВКП, в стенку проксимальных отделов общих (правой и левой) кардинальных вен и/или самого каудального отдела сердечной трубки. В результате миокардиализации кардинальных вен образуются симметричные удлинённые отделы — т.н. рога ВС, которые и составляют его основной объем у некоторых животных — например, млекопитающих [41, 42].

У млекопитающих ВС является временной эмбриональной структурой. В пренатальный период ВС редуцируется таким образом, что его левый рог преобразуется в коронарный синус, служащий дренажем коронарных вен. Правый рог ВС у млекопитающих включается в результате процесса, именуемого атриализацией [24], в состав стенки правого предсердия. Предполагается, что небольшая часть миокарда ВС включается также в состав стенки левого предсердия. Передние и задние кардинальные вены, приносящие кровь в ВС на эмбриональных стадиях, преобразуются в верхние полые (краниальные) и непарные вены соответственно [43]. САУ является структурой, которая формируется у всех млекопитающих на основе венозного синуса.

2.6. Атриализация венозного синуса у млекопитающих животных

В результате атриализации венозного синуса САК, включающий две створки, претерпевает существенную перестройку. Створки САК в эмбриогенезе расходятся и частично редуцируются: правая створка САК включается в стенку правого предсердия и разделяет его гладкостенную и trabeculyarizovannuyu часть, сохраняясь в форме борозды — «пограничного гребешка» (*crista terminalis*). Часть правой створки САК также формирует евстахиев клапан. Левая створка САК включается в предсердную перегородку с правой ее стороны. В итоге стенка правого рога ВС преобразуется у млекопитающих в часть стенки правого предсердия, располагающуюся между пограничным гребешком и предсердной перегородкой (т.н. *sinus venarum*). У некоторых млекопитающих, например мышей, инкорпорация ВС происходит не полностью, в результате чего устья полых вен открываются в частично отделенное от правого предсердия пространство [44].

В целом ряде исследований в результате функциональных экспериментов показано, что в период пренатального развития от момента окончания петлеобразного изгибания сердечной трубки и до момента окончания атриализации ВС роль пейсмекера сердца выполняет не локализованная, четко ограниченная структура, а участок, включающий миокард ВС и кардинальных вен [43]. Следует отметить, что миокард как кардинальных вен, так и всего ВС экспрессирует

HCN4-каналы вплоть до позднего пренатального периода [45, 46]. Таким образом, у разных видов млекопитающих функцию эмбрионального пейсмекера может брать на себя распределенная область в комплексе ВС и кардинальных вен за пределами развивающегося САУ [47, 48].

2.7. Формирование дефинитивного пейсмекера сердца у позвоночных животных

У низших позвоночных животных редукции ВС в ходе онтогенеза не происходит, а его атриализация может носить только функциональный характер. Видимо, у амфибий роль дефинитивного пейсмекера выполняет весь миокард ВС, происходящий из $Nkx2.5^-/Isl1^-/TBX18^+$ -клеток, в которых к концу эмбрионального развития повышается экспрессия *Isl1*. У других эктотермов функциональная атриализация ВС приводит к тому, что кардиомиоциты большей части венозного синуса замещаются фибробластами (костистые рыбы) либо они теряют способность к автоматии (рептилии). В таком случае, способность к автоматии сохраняет только круговой участок миокарда на периферии САК [23].

У млекопитающих после миграции из кардио-генных полей мезенхимальные $Isl1^+/Nkx2.5^-$ - и $Nkx2.5^-/Isl1^-/TBX18^+$ -предшественники САУ локализируются в области устьев правой и/или левой общих кардинальных вен, т.е. в основании рогов ВС. Предполагается, что популяция клеток-предшественников САУ не смешивается с предшественниками собственно ВС, что исключает его клеточную мозаичность. У мышей примордиальный САУ развивается как утолщение основания стенки правого рога ВС в период E10.5-E14.5. В этой зоне отсутствует экспрессия *Gja1* (кодирующего коннексин *Cx40*), но наблюдается экспрессия «пропейсмекерных» ТФ [49]. В результате атриализации ВС участок миокарда в основании кардинальных вен, включающий примордиальный САУ, встраивается в стенку правого предсердия и дефинитивный САУ обнаруживается в межвенной области.

В ходе позднего пренатального — возможно, у некоторых млекопитающих и раннего постнатального — онтогенеза область миокарда, способная к автоматической активности и включающая кардинальные вены, ВС и САУ, уменьшается за счет снижения уровня экспрессии HCN4 и усиления экспрессии белков рабочего электрофизиологического фенотипа. Иными словами, в ходе развития происходит компактизация пейсмекера сердца, а атриализация имеет не только морфологический, но и функциональный характер [48]. Установлено, что у крыс на ранних этапах постнатального онтогенеза миокардиальная ткань краниальных (передних) полых вен характеризуется деполяризованным и нестабильным потенциалом покоя, низкой скоростью проведения возбуждения, слабой электри-

ческой взаимосвязью кардиомиоцитов, то есть частично демонстрирует свойства пейсмекерного миокарда. Эти особенности обусловлены пониженной экспрессией белков калиевых ионных каналов аномального выпрямления *Kir2.x*, а также высокопроводящих белков щелевых контактов *Cx43*. Миокардиальная ткань полых вен происходит из той же группы клеток, что и кардиомиоциты эмбриональных кардинальных вен и ВС. В постнатальном онтогенезе миокардиальная обкладка передних кардинальных вен, являющаяся фактически продолжением стенки ВС, преобразуется в миокардиальную обкладку краниальных полых вен. В ходе онтогенеза экспрессия *Kir2.x* и *Cx43* в полых венах увеличивается, а электрофизиологические свойства этой ткани приближаются к таковым в рабочем миокарде [48]. Возможно, что постнатальная атриализация миокарда полых вен характерна и для крупных млекопитающих, включая человека. Локализация, компактизация и изоляция миокарда, способного к автоматии, в ходе развития способствует реализации функции зрелого САУ у млекопитающих — генерации ритма частотой до 10 Гц. Напротив, неполная атриализация или задержка преобразования электрофизиологического фенотипа может способствовать эктопической активности в миокарде полых вен, приводить к аритмиям, феноменологически ассоциированным с пороками развития.

Показано, что у млекопитающих атриализация ВС и компактизация САУ обусловлены изменением паттерна экспрессии ТФ, в первую очередь — появлением $Nkx2.5/GATA4$ в комплексе с транскрипционным активатором *TBX5* в $Nkx2.5$ -негативных клетках [29, 50]. Прямо установлено, что уровень экспрессии $Nkx2.5$ значительно повышается (хотя и не до уровня, наблюдаемого в рабочем миокарде) в ходе онтогенеза в миокардиальной ткани полых вен. У крыс, а возможно и у других млекопитающих, повышение экспрессии указанных ТФ происходит одновременно с формированием симпатической иннервации и, вероятно, обусловлено секрецией норадреналина и трофических факторов адренергическими волокнами. Как указано выше, комплекс $Nkx2.5/TBX5/GATA4$ определяет дифференцировку предшественников кардиомиоцитов по пути рабочего (предсердного) миокарда [20]. Известно, что наиболее часто источником эктопической активности, приводящей к фибрилляции предсердий, является миокард легочных вен. Ранее показано, что в ходе постнатального развития уровень экспрессии $Nkx2.5$ в легочных венах, в противоположность полым, снижается, что, вероятно, делает эту ткань более аритмогенной за счет потери «рабочих» и усиления пейсмекерных характеристик [50]. Таким образом, ТФ, участвующие в формировании САУ, играют роль и в индукции патологический явлений — нарушений ритма сердца.

Развивающийся САУ оказывается защищен от программы атриализации. Одним из механизмов данной защиты является высокий уровень экспрессии репрессора транскрипции, способствующего активации «пропейсмекерной» генетической программы, TBX3 [51, 52] – антагониста Nkx2.5/TBX5/GATA4 [53, 54]. TBX3-позитивные кардиомиоциты венозного полюса сердца демонстрируют автоматическую активность, в отличие от TBX3-негативных. Установлено, что TBX3 дозозависимо подавляет экспрессию белков, определяющих рабочий электрофизиологический фенотип, а также может репрограммировать рабочие кардиомиоциты в пейсмекерные [55]. Уменьшение экспрессии TBX3 ниже некоего порогового уровня приводит к тому, что клетки-предшествен-

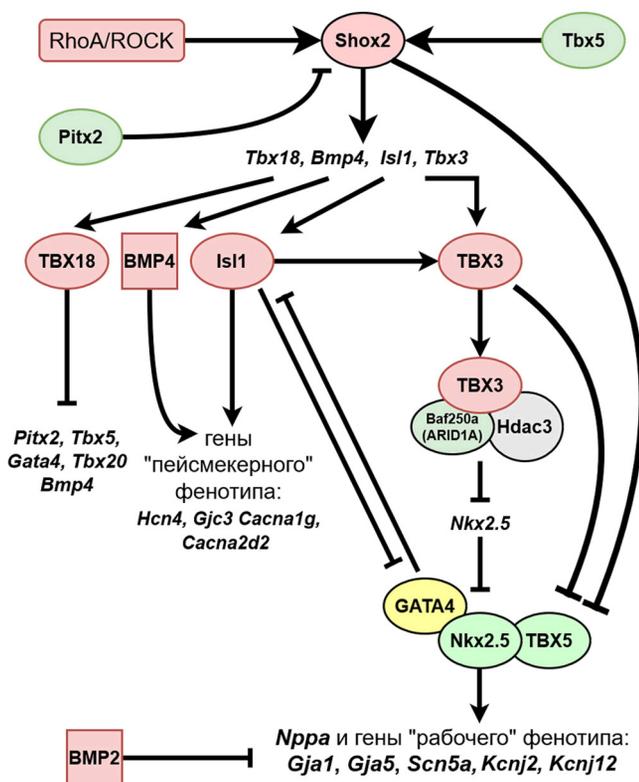


Рис. 2. Гипотетическая схема взаимодействия и иерархия транскрипционных факторов, морфогенетических белков и сигнальных каскадов, определяющих формирование в ходе эмбриогенеза кардиомиоцитов с пейсмекерным электрофизиологическим фенотипом в синоатриальном узле (САУ) млекопитающих. «Пропейсмекерные» факторы показаны красным цветом; факторы, направляющие дифференцировку кардиомиоцитов по рабочему типу (т.е. придающие свойства рабочего миокарда), показаны зеленым цветом. *Hcn4, Gjc3, Casna1g, Casna2d2* – гены белков (HCN4-каналов, коннексина Сх30.2, α -субъединицы кальциевого потенциалчувствительного ионного канала Cav3.1, субъединицы $\alpha 2\delta 2$ кальциевого потенциал-чувствительного канала, соответственно), специфических для пейсмекерных кардиомиоцитов САУ. *Nppa, Gja1, Gja5, Scn5a, Kcnj2, Kcnj12* – гены белков (предсердного натрийуретического пептида, коннексинов Сх40, Сх43, натриевого потенциалчувствительного канала Nav1.5, калиевых каналов аномального выпрямления Kir2.1, Kir2.2 соответственно), специфических для рабочих кардиомиоцитов предсердий.

ники САУ дифференцируются в рабочие кардиомиоциты. Подавление экспрессии TBX3 в ходе кардиогенеза приводит к гипоплазии САУ, брадикардии или брадиаритмиям у экспериментальных животных.

Эпигенетический транскрипционный контроль с участием TBX3 реализуется за счет того, что этот ТФ формирует гетерокомплекс, включающий белок Baf250a (ARID1A) и одну из гистондеацетилаз (Hdac3), который деацетилюет гистоны локуса Nkx2.5, тем самым подавляя экспрессию этого ТФ [56]. Считается, что одним из активаторов экспрессии TBX3 является *Isl1* (рис. 2).

Предполагается, что TBX3 недостаточен для формирования САУ, и, как указано выше, основным ТФ, который определяет судьбу клеток-предшественников САУ, является TBX18 [40]. TBX18 необходим для спецификации и локализации отдельного клона мезенхимальных клеток в мезодерме, а также дифференцировки клеток-предшественников в кардиомиоциты ВС и САУ. Дополнительным фактором, который, возможно, принимает участие в спецификации предшественников САУ и подавлении экспрессии генов рабочего фенотипа, является репрессор TBX2 [57].

Вероятно, неполная атриализация ВС и компактизация САУ в ходе пре- и постнатального развития, которая может приводить к эктопической аритмогенной автоматии в миокардиальной обкладке полых вен, связана с недостаточной экспрессией Nkx2-5, а также неполным подавлением экспрессии TBX2, TBX3, TBX18. Показано, что миокард полых вен взрослых млекопитающих при активации аднерорецепторов $\alpha 1$ -типа, по крайней мере, у крыс, демонстрирует некоторые свойства, характерные для пейсмекерного миокарда [58]. Таким образом, причиной аритмогенного действия $\alpha 1$ -аднергической стимуляции в некоторых участках наджелудочкового миокарда может являться «пейсмекерный» профиль экспрессии ТФ.

2.8. Асимметричная локализация САУ у млекопитающих

В настоящее время предполагается, что висцеральная кардиогенная мезодерма уже на стадии выделения кардиогенных полей является билатерально асимметричной. Показано, что задний отдел ВКП вносит разный вклад в билатеральные части эмбрионального сердца [59]. Одной из причин правостороннего расположения дефинитивного САУ может быть асимметричная миграция мезенхимальных клеток-предшественников из кардиогенных полей.

У млекопитающих в процессе атриализации ВС часть предшественников кардиомиоцитов САУ может оказаться в основании левой кардинальной вены и затем – в составе стенки левого предсердия. Такие клетки могут являться основой для патологического «левостороннего» пейсмеке-

ра сердца, сохраняющегося в эмбриональный период, либо даже в постнатальной жизни. В норме формирование «левостороннего» пейсмекера подавляется, и роль естественного дефинитивного ритмоводителя сердца берет на себя САУ в стенке правого предсердия. Ключевым ТФ, подавляющим развитие пейсмекерного миокарда в левом роге ВС и левом предсердии, является *Pitx2c*. Он управляет формированием билатеральной асимметрии и является элементом сигнального пути *Nodal/Lefty/Pitx2* [20, 60]. Этот ТФ в левом предсердии является прямым репрессором «пропейсмекерного» *Tbx3*, а также *Shox2* [61].

3. Молекулярный контроль генетических программ эмбриогенеза венозного синуса и САУ

Роль пейсмекера сердца на разных этапах онтогенеза берут на себя различные структуры, включая каудальный участок первичной сердечной трубки, ВС или его отделы и, наконец, дефинитивный САУ (у млекопитающих). Генетический и транскрипционный контроль онтогенеза пейсмекера сердца обусловлен сложным, эпистатическим или «сетевым», взаимодействием множества факторов, определяющих активацию миогенной программы в мезенхимальных предшественниках, регуляцию их миграции и пролиферации, дифференцировку и контроль электрофизиологического фенотипа. Одни и те же факторы могут регулировать кардиогенез на самых ранних этапах эмбрионального развития – стадии индукции кардиогенной ткани – и терминальную дифференцировку кардиомиоцитов в пренатальный период, что усложняет исследование молекулярных механизмов пространственно-временного контроля развития пейсмекерных структур. Тем не менее роль отдельных сигнальных молекулярных каскадов на критических этапах формирования пейсмекера сердца выяснена, что продемонстрировано далее в настоящем обзоре.

3.1. Транскрипционные факторы *Nkx2.5/GATA4/TBX3* и *Shox2* в контроле развития венозного синуса и САУ

Гомеодоменный белок семейства NK-2 – *Nkx2.5* – функционирует в виде димера с *GATA4*; *Nkx2.5* и *GATA4* являются реципрокными коактивирующими факторами [62]. Помимо *GATA4* функционирование *Nkx2.5* контролируется целым рядом белков семейства T-бокс. *Tbx5* физически взаимодействует с *Nkx2.5*, формируя активационный комплекс *Nkx2.5/GATA4/Tbx5* [63]; в предшественниках кардиомиоцитов этот комплекс запускает транскрипцию генов рабочего фенотипа. Наоборот, *Tbx3*, замещая *Tbx5* в комплексе *Nkx2.5/GATA4*, подавляет транскрипцию генов рабочего фенотипа [38]. Установлено, что *Nkx2.5* и *Isl1* также функционируют антагонистически и подавляют экспрессию друг друга.

Под контролем *Nkx2.5/GATA4* находится ген предсердного натрийуретического пептида *Npra*. Предсердный натрийуретический пептид экспрессируют только те кардиомиоциты, в которых высок уровень *Nkx2.5*, в то время как все структуры, являющиеся производными венозного синуса, в том числе САУ, его не экспрессируют. Этот пептид длительное время рассматривался как маркер рабочего предсердного и желудочкового миокарда [64].

Клетки ВС на всем протяжении эмбрионального развития, а также кардиомиоциты дефинитивного САУ экспрессируют гомеодоменный ТФ *Shox2*. Более того, экспрессия *Shox2* ограничена ВС в ходе эмбрионального развития и миокардом САУ у взрослых млекопитающих. Мутанты по гену *Shox2* демонстрируют выраженную гипоплазию САУ, сопровождающуюся тяжелой брадикардией. В межвенной области правого предсердия, соответствующей расположению САУ, у мутантов *Shox2^{-/-}* наблюдается экспрессия *Nkx2.5* и коннектинов *Cx43*, характерных для рабочего миокарда [65]. *Shox2* необходим для формирования мезенхимальных предшественников САУ.

Непосредственными мишенями *Shox2* являются гены ключевых ТФ, определяющие пейсмекерный фенотип кардиомиоцитов – *Isl1*, *Tbx3*, *Tbx18*, *T,5*, *BMP4* [66]; *Shox2* для *Nkx2.5* в миокарде ВС выступает в роли репрессора [67]. Показано, что именно антагонистический баланс физически взаимодействующих *Shox2* и *Nkx2.5* определяет фенотип кардиомиоцитов и способность миокардиальной ткани к автоматии. Предполагается, что, наряду с *Tbx3* и *Tbx18*, *Shox2* предотвращает атриализацию САУ, но в то же время, активируя «пропейсмекерные гены», обуславливает эктопическую аритмогенную активность в миокарде легочных вен [68, 69]. Таким образом, *Shox2* находится на вершине иерархии ТФ, контролирующих «пейсмекерную» (эпи)генетическую программу [70] (рис. 2).

3.2. Миокардиальные морфогены семейства *BMP*

Костные морфогенетические белки (*BMP* – bone morphogenic protein) относятся к суперсемейству трансформирующего ростового фактора и регулируют развитие практически всех тканей и органов у животных. Белки этого семейства и их мембранные рецепторы необходимы как для ранних, так и для поздних этапов кардиогенеза. В частности, *BMP* необходимы для дифференцировки кардиобластов из мезенхимальных предшественников [71]. Роль *BMP* в эмбриогенезе пейсмекера сердца несомненна. Однако, вследствие многочисленности белков семейства и сложного характера их взаимодействия, только для некоторых представителей этой группы морфогенов установлено их значение для формирования САУ.

BMP2 стимулирует ЭМП, способствуя накоплению пула мезенхимальных кардиогенных кле-

ток, активирует экспрессию репрессоров транскрипции, специфических для пейсмекерного миокарда – TBX2 и TBX3 [45, 72]. BMP2 подавляет экспрессию *Scn5a*, кодирующего ионный канал Nav1.5, характерный для рабочего миокарда [3].

BMP4 является непосредственной мишенью Shox2: этот ТФ взаимодействует с промотором *Bmp4* в ткани венозного конца сердечной трубки [73]. У мутантов *Shox2^{-/-}* экспрессия BMP4 практически полностью подавлена, кроме того, снижена экспрессия HCN4, а экспрессия *Cx40* избыточно распространена в дорзальной мезенхиме [47]. По крайней мере в эмбриональной культуре BMP4 стимулирует дифференцировку TBX18-позитивных предшественников в миоцитоподобные клетки, демонстрирующие способность генерировать пейсмекерные потенциалы действия [74]. С большой вероятностью BMP4 является необходимым морфогенетическим фактором для САУ.

3.3. Сигнальные белки семейства Wnt; Wnt/ β -катениновый и Wnt/JNK-путь в морфогенезе САУ

Класс секретируемых белков Wnt включает у млекопитающих более 10 членов; белки Wnt участвуют в поддержании свойств стволовых клеток, межклеточной коммуникации, индукции мезодермы и регулируют эмбриогенез целого ряда органов и тканей [75]. Сигнальный путь Wnt включает сопряженные с G-белком мембранные рецепторы семейства Frizzled (Fz-рецепторы) [76]. Сигнализация посредством Wnt находится под тесным контролем множества факторов, таких как ингибиторы передачи Wnt-сигнала, наиболее известным из которых является DKK1 (белок семейства «дикокопф»). Сигнальные каскады Wnt разделяют на два типа: «канонический» и «неканонические». В каноническом сигнальном пути активация Fz-рецептора приводит к стабилизации цитоплазматического белка β -катенина. Накапливающийся в ядре β -катенин связывает и активирует комплекс TCF/LEF, являющийся ТФ для генов-мишеней Wnt [77]. Один из неканонических путей Wnt, вовлеченных в кардиогенез, включает киназу JNK (c-Jun kinase). Киназа JNK активирует белок c-Jun, который совместно с белком c-Fos формирует гетеродимерный ТФ «немедленного ответа» AP-1 (activator protein 1) [7].

Множественность лигандов сигнальных путей Wnt, а также сложность пространственно-временного паттерна экспрессии элементов Wnt затрудняют изучение роли этого важнейшего фактора в морфогенезе структур сердца. Тем не менее установлено, что на ранних стадиях сигнализация как через канонический Wnt/ β -катениновый (Wnt/ β), так и неканонический Wnt/JNK-путь необходима для индукции *Isl1⁻*, *Nkx2.5*-позитивной кардио-генной мезодермы, для поддержания пула и пролиферации кардиогенных клеток- предше-

ственников, а также для предотвращения преждевременной дифференцировки мезенхимальных клеток в кардиомиоциты [78].

После выделения кардиогенных полей Wnt/ β -катениновая сигнализация ограничивает дифференцировку и стимулирует пролиферацию *Nkx2.5*-негативных клеток ВКП. Таким образом, Wnt/ β (возможно, посредством Wnt2 и/или Wnt10a) способствует рекрутингу клеток и развитию венозного полюса сердца (ВС и его рогов), обеспечивает миокардиализацию кардинальных вен [79]. Неканоническая Wnt/JNK-сигнализация, наоборот, стимулирует терминальную дифференцировку клеток, происходящих из всех кардиогенных полей (рис. 3А) [78, 80]. По крайней мере в одной работе показано, что манипуляции, приводящие к подавлению Wnt/ β или Wnt/JNK, не вызывают нарушения формирования TBX18-позитивного пула клеток в ВС и последующего формирования САУ [79]. Эти данные подтверждают предположение, что клетки-предшественники САУ выделяются в кардиогенной мезодерме очень рано, а Wnt действует независимо от TBX18 и участвует лишь в эмбриогенезе «правильного» окружения и необходимых для мигрирующих клеток-предшественников САУ «мест притяжения» (кардинальных вен).

3.4. Белок Wt1

Продукт гена *Wt1* является ТФ, ранее известным как белок, вовлеченный в патогенез нефробластомы Вильмса (*Wt1* – Wilms tumor 1). В настоящее время установлено, что *Wt1* важен для морфогенеза ряда органов, а в кардиогенезе этот ТФ стимулирует рекрутинг мезенхимальных предшественников из кардиогенной мезодермы посредством ЭМП, подавляя экспрессию E-кадгерина. Подавление экспрессии гена E-кадгерина *Cdh1* происходит за счет усиления транскрипции *Snail*, кодирующего репрессор генов белков адгезии [81]. Установлено, что *Wt1* критически важен для нормального развития общих кардинальных вен, их миокардиализации и формирования рогов ВС [82]. *Wt1* необходим для правильной локализации кардинальных вен в каудальной области сердечной трубки (рис. 3А). Интересно, что у *Wt1^{-/-}*-мутантов обнаруживаются клетки-предшественники САУ, однако невозможно формирование дефинитивного САУ.

Предполагается, что эффекты *Wt1* обусловлены локальной стимуляцией экспрессии *Raldh2* – гена ретинальдегиддегидрогеназы 2, синтезирующей ретиноевую кислоту (РК) из ретинальдегида. РК является фактором, стимулирующим дифференцировку кардиомиоцитов [83], а также локальный апоптоз групп мезенхимальных клеток, что способствует правильному позиционированию общих кардинальных вен и формированию субстрата для будущего САУ.

3.5. Сигнальный каскад Slit/Robo

Белки семейства Slit (белки «средней линии») представляют собой секретируемые внеклеточные молекулы, наиболее известной функцией которых является управление ростом аксонов [84]. Белки семейства Robo (рецепторы «кругового перекрестка») являются мембранными рецепторами Slit. У млекопитающих экспрессируется *Robo1-4* [85, 86]. Рецепторы Robo взаимодействуют с цитоплазматическими белками, участвующими в каскадах, регулирующих клеточную адгезию, пролиферацию, модификацию цитоскелета [87].

В настоящее время показано, что лиганды семейства Slit (Slit2, Slit3) и их рецепторы Robo (Robo1, Robo2) экспрессируются в промиокардиальных клетках ВКП в пределах кардиогенного серпа, кардиомиоцитах первичной сердечной трубки, а также в различных отделах сердца на более поздних этапах пренатального онтогенеза [87],

играя, таким образом, существенную роль в кардиогенезе. Мутации в генах элементов сигнального каскада Slit/Robo приводят к различного рода дефектам развития в сердце. В частности, мутации в генах *Robo* ассоциируют с тетрадой Фалло и синдромом Холта-Орама [87, 88].

Поскольку экспрессия *Slit2* обнаруживается в мезенхиме, окружающей полые вены, а экспрессия *Slit3* детектируется в миокарде рогов ВС, предположили, что сигнальный каскад Slit/Robo участвует в формировании ВС и САУ [89]. Кроме того, рецепторы Robo1 и Robo2 экспрессируются в области венозного полюса эмбрионального сердца и мезенхиме заднего отдела ВКП [90]. У мутантов *Robo1^{-/-}*, *Robo2^{-/-}*, не экспрессирующих Robo1 и Robo2, невозможно формирование рогов ВС, что приводит к гипоплазии полых вен (рис. 3Б) [87]. Однако накопление клеток САУ у указанных мутантов не нарушено [89].

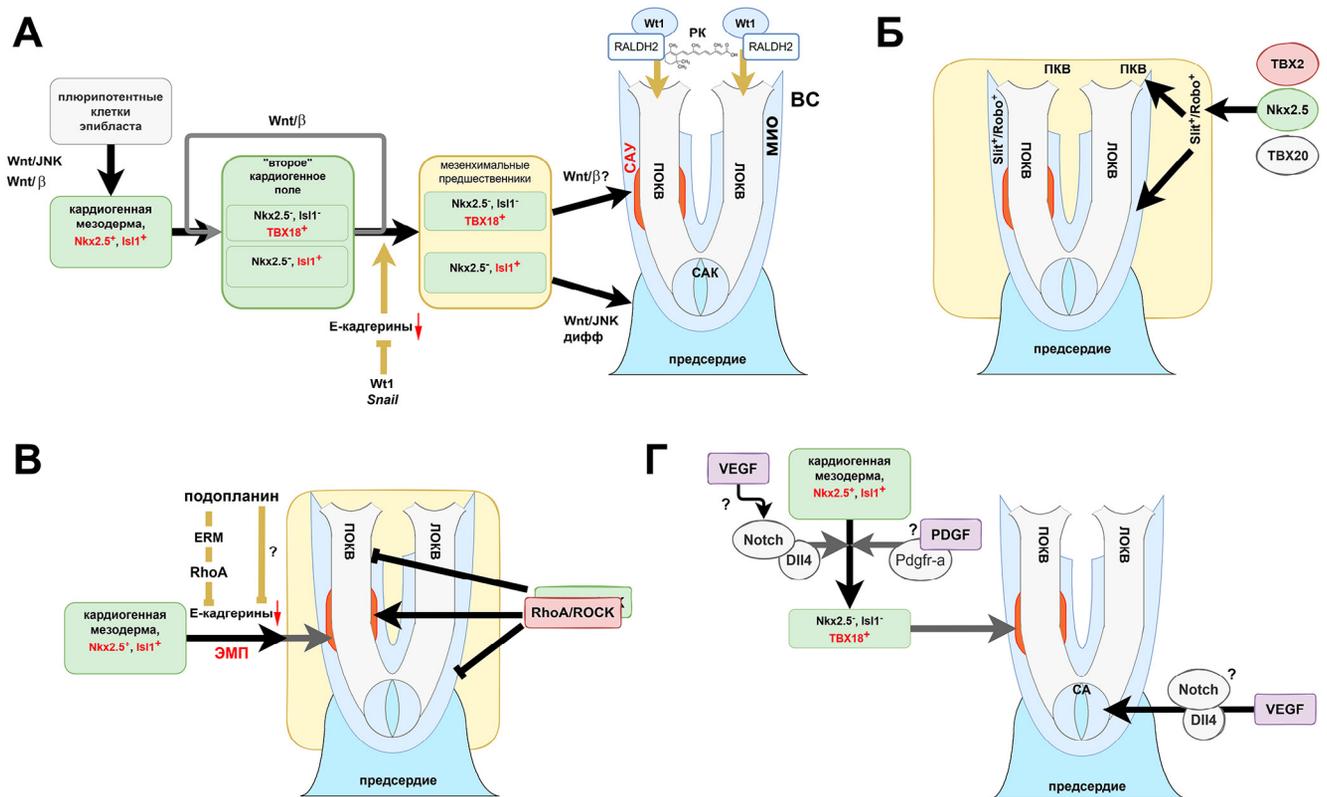


Рис. 3. Сигнальные молекулы и каскады, контролирующие морфогенез доминантного пейсмекера сердца млекопитающих в синоатриальном узле (САУ). **А.** Роль сигнальных каскадов Wnt и Wt1 в индукции, пролиферации и дифференцировке клеток-предшественников САУ. Сигнальный каскад Wt1 необходим для формирования кардинальных вен. **Б.** Сигнальный каскад Slit/Robo в морфогенезе структур венозного синуса и его контроль со стороны транскрипционных факторов. Slit/Robo необходим для формирования морфологической основы в венозном полюсе сердца для мигрирующих клеток-предшественников САУ. **В.** Подопланин и сигнальный каскад, включающий RhoA, а также RhoA-киназу (ROCK) как факторы эмбриогенеза САУ. Подопланин, подавляя экспрессию белков клеточной адгезии и стимулируя эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), способствует накоплению клеток-предшественников, формирующих САУ. Rho/ROCK необходим для примордиального ограничения экспансии клеток-предшественников САУ в венозном синусе. **Г.** Эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF) и фактор роста тромбоцитов (PDGF) необходимы для индукции мезодермальных и мезенхимальных клеток-предшественников САУ. Красным цветом показана область эмбрионального САУ в венозном синусе; зеленым цветом показаны участки кардиогенной мезодермы; желтым цветом показан пул мезенхимальных клеток второго кардиогенного поля и латерального ободка. ВС – венозный синус, дифф – терминальная дифференцировка, мио – миокардиальная стенка рогов ВС, ПКВ – передняя кардинальная вена, ПОКВ, ЛОКВ – правая или левая общая кардинальная вена, РК – ретиноевая кислота, САК – синоатриальный клапан. Wnt/ β – канонический « β -катениновый» сигнальный путь Wnt; Wnt/JNK – неканонический сигнальный путь Wnt, включающий киназу фактора c-Jun; ? – предполагаемый механизм.

Этот факт подтверждает гипотезу о раннем разделении предшественников САУ и миоцитов ВС в эмбриогенезе. Кроме того, у мутантов *Slit3*^{-/-} не происходит миокардиализации краниальных (верхних) полых вен. Таким образом, изменение активности каскада *Slit/Robo* может влиять на аритмогенность миокардиальной обкладки полых вен.

Регуляция активности сигнального каскада *Slit/Robo* тесно связана с ключевыми ТФ кардио-генеза — *TBX2*, *TBX20*, *TBX5*, *Nkx2.5*. ТФ *TBX2* может связываться с промотором гена *Slit3*, ограничивая его экспрессию; *Nkx2.5* также подавляет экспрессию генов *Slit*; в то же время *TBX20*, наоборот, стимулирует экспрессию *Slit*. Предполагается, что ТФ *TBX2*, *20* и *Nkx2.5* сложным образом определяют пространственный паттерн экспрессии *Slit* в развивающемся сердце [87, 90].

3.6. Подопланин

Подопланин является трансмембранным, сильно гликозилированным белком (муциноподобным гликопротеином), играющим важную роль в регуляции морфогенеза [91]. В настоящее время показано, что подопланин является маркером мезенхимальных клеток ВКП и экспрессируется в *Nkx2.5*-негативных, *TBX3*-позитивных предшественниках и кардиомиоцитах ВС и краниальных вен, в клетках-предшественниках и зрелых кардиомиоцитах САУ [37].

Как указано выше, кардиогенная мезенхима заднего кардиогенного поля и латерального ободка формируется за счет рекрутинга клеток висцеральной мезодермы (по сути, целомического эпителия — мезотелия), претерпевающих ЭМП. Для реализации программы ЭМП необходимо подавление экспрессии в мезодерме белков клеточной адгезии, в частности E-кадгерина. Подопланин подавляет экспрессию E-кадгерина, способствуя ЭМП [92], миграции и экспансии мезенхимальных предшественников кардиомиоцитов венозного полюса сердца. Подавление экспрессии подопланина в эмбриональном онтогенезе вызывает гипоплазию САУ [93, 94].

Подопланин активирует сигнальный каскад *RhoA/Rock*, включающий, соответственно, малую ГТФазу семейства *Rho* (*RhoA*) и *Rho*-зависимую киназу (*Rock*). Считается, что с подопланином взаимодействуют белки так называемой ERM-группы (*ezrin*, *radixin*, *moesin*), обуславливающие связь плазматической мембраны с цитоскелетом и определяющие клеточную подвижность [95]. Взаимодействие подопланина с ERM-белками приводит к активации *RhoA*, что способствует ЭМП в мезотелии ВКП. Показано, что активация *RhoA* подавляет экспрессию E-кадгерина и, таким образом, стимулирует ЭМП и накопление клеток-предшественников, а также развитие САУ (рис. 3В) [93].

3.7. Сигнальный каскад малых ГТФаз *RhoA/Rock*

Сигнальный каскад малых ГТФаз *RhoA/Rock* известен как ключевой регулятор динамической реорганизации цитоскелета. Кроме того, *RhoA/Rock* участвует в контроле миграции, пролиферации и дифференцировки клеток в онтогенезе [96].

В настоящее время показано, что *RhoA/Rock* играет важную роль в раннем кардиогенезе и формировании пейсмекера сердца. У эмбрионов курицы экспрессия *RhoA* исходно наблюдается во всей сердечной трубке, но в ходе развития постепенно ограничивается до небольшой группы *Nkx2.5*⁻/*Isl1*⁻/*TBX18*⁺-клеток, т.е. совпадает с зоной локализации предшественников САУ [97]. У млекопитающих подавление сигнализации через *RhoA/Rock*, а также подавление экспрессии *Rock* приводит к снижению уровня ключевых для САУ ТФ — *Isl1*, *TBX3*, *Shox2*. В то же время подавление *RhoA/Rock* вызывает aberrантный паттерн экспрессии ТФ: высокий уровень *Isl1* и *Shox2* наблюдался за пределами правого рога ВС. Кроме того, при экспериментальном нарушении сигнального пути *RhoA/Rock* пейсмекерные потенциалы действия обнаруживаются вне зоны примордиального САУ, а также в левом отделе ВС; наблюдаются аномальный характер активации и паттерн проведения возбуждения в венозном синусе (рис. 3В) [98].

Таким образом, *RhoA/Rock* критически важен для формирования дефинитивного САУ: активность сигнального пути необходима для латерализации, компактизации САУ и, возможно, реализуется путем контроля ключевых для САУ ТФ. Кроме того, *RhoA/Rock* ограничивает экспрессию «пропейсмекерных» генов вне зоны дефинитивного САУ, предотвращая эктопическую аритмогенную активность в предсердном миокарде.

3.8. Эндотелиальный фактор роста сосудов

В ряде работ показано, что избыточная экспрессия у мышей одного из белков (*VEGF*₁₂₀), относящихся к семейству эндотелиальных факторов роста (*VEGF* — vascular endothelial growth factor), приводит к брадикардии и гипоплазии САУ, при которой плотность кардиомиоцитов в пейсмекерной области снижена, а васкуляризация, наоборот, повышена [99, 100]. Кроме того, избыточная экспрессия *VEGF*₁₂₀ приводит к появлению коннексинов высокой проводимости *Cx43* в САУ и его дисфункции [101]. Таким образом, имеется экспериментальное подтверждение участия *VEGF* в формировании САУ.

Одним из сигнальных путей, активируемых *VEGF* посредством его рецепторов *VEGFR2*, является т.н. *Dll4/Notch*-каскад [102]. Трансмембранные белки *Notch* (продукты генов, ассоциированных с мутацией, при которой у плодовых мушек наблюдаются выемки на краях крыльев) совместно с белком *Dll4* («дельта-подобный» бе-

лок 4) являются важнейшими медиаторами межклеточных взаимодействий. Сигнализация через Dll4/Notch регулирует миграцию и пролиферацию клеток в ходе развития. При активации VEGF внутриклеточный домен белка Notch транслоцируется в ядро, где выступает в роли транскрипционного коактиватора. Несмотря на то, что сигнальный путь VEGF/Dll4/Notch считается эндотелиальным (и эндокардиальным), установлено, что этот каскад координирует дифференцировку и пролиферативную активность в ВКП [101]. На поздних этапах кардиогенеза VEGF/Dll4/Notch регулирует трабекуляризацию миокарда, развитие клапанов сердца и коронарных артерий [103].

К настоящему моменту показано, что Notch1 критически важен для нормального развития САК, спецификации клеток-предшественников и формирования САУ. Подавление экспрессии Notch1 в эндокарде останавливает развитие САК, снижает количество клеток, экспрессирующих HCN4 и TBX18, и приводит к гипоплазии САУ. Показано, что Notch1 необходим для индукции и рекрутинга мезенхимальных TBX18-позитивных предшественников САУ, а также пролиферации этого клеточного клона (рис. 3Г). Предполагается, что медиатором «эндокардиального» фактора Notch1 в миокардиальной мезенхиме является нейрегулин, активирующий канонический Wnt/ β -катениновый путь [104].

3.9. Фактор роста тромбоцитов

Как и в случае с VEGF, наиболее известной ролью тромбоцитарного фактора роста (PDGF – platelet-derived growth factor) является стимуляция ангиогенеза. Эффекты PDGF реализуются посредством активации мембранных рецепторов, обладающих тирозинкиназной активностью. Показано, что PDGF и его рецептор Pdgfr- α необходимы для спецификации прокардиогенных клеток задней части ВКП – т.е. той области мезодермы, в которой предполагается локализация клеток-предшественников САУ [105]. Имеются противоречивые данные касательно роли PDGF/Pdgfr- α в позднем кардиогенезе и формировании САУ. Согласно результатам ранних исследований, подавление экспрессии Pdgfr- α приводит к гипоплазии ВС и САУ. У мышей, мутантов *Pdgfra*^{-/-}, в различных участках развивающегося сердца, включая кардинальные вены и САУ, повышается уровень Nkx2.5 и Wt1 [106]. Однако, согласно более поздним исследованиям, у мутантов *Pdgfra*^{-/-} не наблюдалось каких-либо морфологических либо функциональных изменений САУ [107]. Возможно, что рецептор Pdgfr- α необходим для накопления пула мезенхимальных клеток-предшественников САУ в кардиогенной мезодерме и контроля их миграции на самых ранних этапах онтогенеза (рис. 3Г).

Проведенный недавно анализ транскриптома фетальных клеток и кардиомиоцитов зрелого САУ с помощью РНК-секвенирования показал, что в пейсмекерных клетках по сравнению с кардиомиоцитами рабочего миокарда существенно повышена экспрессия более 2000 генов, включая гены ТФ, ионных каналов и белков кальциевого круговорота.

В клетках САУ существенно выше экспрессия *Notch* и функционально ассоциированных с ним генов; генов, связанных с сигнальным каскадом BMP; генов, ассоциированных с организацией и ремоделированием внеклеточного матрикса, межклеточных контактов. Эти данные косвенно подтверждают участие ряда вышеописанных регуляторных каскадов в формировании пейсмекера сердца у млекопитающих. Показано также, что экспрессия ключевых генов *TBX3*, *Isl1*, *Shox2*, *Hcn4*, генов BMP-сигнализации остается высокой не только в эмбриональном периоде онтогенеза, но и кардиомиоцитах дефинитивного САУ, поддерживая уникальный электрофизиологический фенотип пейсмекерных клеток.

Таким образом, к настоящему времени установлены основные молекулярные регуляторы, необходимые для формирования САУ. К наиболее важным факторам следует, в первую очередь, отнести те, что индуцируют кардиогенную мезодерму и ЭМП, способствуя накоплению пула мезенхимальных клеток-предшественников САУ (BMP, Wnt, VEGF), а также стимулируют их миграцию (подопланин). Во вторую очередь к необходимым факторам следует отнести те, что способствуют формированию пейсмекерного электрофизиологического фенотипа в клетках-предшественниках САУ – это TBX3, TBX18, Isl1 и, вероятно, наиболее значимый среди ТФ – Shox2.

Установление молекулярных факторов, направляющих «судьбу» клеток-предшественников по пути формирования пейсмекерных кардиомиоцитов, привело к некоторому прогрессу в проблеме создания искусственных биологических пейсмекеров. Как указано выше, повышение экспрессии пропейсмекерных ТФ в рабочих зрелых кардиомиоцитах или в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (ИПСК) способно их репрограммировать в «пейсмекероподобные» клетки [55, 108, 109]. Следует указать, что до недавнего времени основной подход к индукции автоматической активности в кардиомиоцитах заключался в трансдукции клеток или миокардиальной ткани векторными конструкциями, приводящими к подавлению экспрессии калиевых ионных каналов аномального выпрямления (Kir2.x) либо к усилению экспрессии каналов HCN, ответственных за пейсмекерный ток I_f. Как подтверждено в ряде работ, при таком подходе кардиомиоциты действительно приобретают способность спонтанно генерировать потенциалы

действия, однако они не приобретают фенотип клеток САУ.

Упомянутый прогресс, в значительной степени, сводится к уточнению состава коктейлей регуляторных факторов (ингибиторов или активаторов рецепторов), используемых для направления дифференцировки ИПСК, эмбриональных стволовых клеток или эмбриональных кардиомиоцитов в пейсмекерные клетки. Современные протоколы, в которых, в том числе, применяются ингибиторы сигнальных каскадов Wnt, сигнальных каскадов BMP, RhoA/ROCK, позволяют получить заметный процент САУ-подобных клеток в популяции кардиомиоцитов при дифференцировке ИПСК [110]. Такие САУ-подобные клетки демонстрируют способность к автоматии, пейсмекерные потенциалы действия, могут быть Nkx2-5-негативными, а также экспрессировать Isl1, TBX3, TBX18, Shox2, HNC4 и Cx45. Тем не менее, популяции САУ-подобных клеток, получаемых из ИПСК, крайне гетерогенны как по электрофизиологическим свойствам, так по и профилю экспрессии белков, что затрудняет их использование при клеточной терапии.

Тем не менее, биоинженерный подход к созданию биологических «пейсмекероподобных» органоидов, а также способы восстановления ритма сердца на основе клеточной терапии или локальном контроле экспрессии генов широко обсуждается в литературе [111]. Предполагается, что перспективным методом получения САУ-подобных клеток из ИПСК является поэтапная манипуляция экспрессией ТФ, направляющих развитие и дифференцировку по пейсмекерному пути. Показано, что контролируемая во времени стимуляция факторами BMP4, FGF, активином А с последующей обработкой ингибиторами продукции Wnt и VEGF приводит к почти полной дифферен-

цировке ИПСК в САУ-подобные клетки, экспрессирующие Isl1, TBX3, TBX18, Shox2, HNC4, Cx45 [112]. Экспериментально показано, что такие САУ-подобные клетки способны при трансплантации в рабочий миокард желудочков задавать ритм, формируя таким образом искусственный биологический пейсмейкер.

Наряду с вышесказанным, считается перспективной трансдифференцировка соматических клеток, таких как фибробласты или зрелые рабочие кардиомиоциты, в САУ-подобные клетки [111, 113]. В ряде работ показано, что индукция экспрессии в соматических клетках одного или нескольких пропейсмекерных ТФ – TBX3 [55], TBX18 [114], Isl1 [115] – приводит к их репрограммированию в кардиомиоциты, демонстрирующие, в большей или меньшей степени, фенотип клеток САУ и способность поддерживать ритм после трансплантации в рабочий миокард.

В заключение следует указать, что транскриптомное профилирование выявило значительное количество новых специфических для САУ факторов, участие которых в развитии пейсмейкера сердца ранее известно не было [3, 116]. В итоге многогранная и сложная регуляция развития пейсмейкера сердца позвоночных животных, несмотря на значительный прогресс в понимании морфогенеза, локализации ключевой клеточной популяции и идентификации ключевых ТФ, все еще требует дальнейшего изучения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-14-50459. Работа выполнена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы декларируют отсутствие каких-либо конфликтов интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Souza D.S., Barreto T. de O., Santana M.N.S., Menezes-Filho J.E., Cruz J.S., Vasconcelos C.M. Resident macrophages orchestrating heart rate // *Arq. Bras. Cardiol.* 2019. Vol. 112. N 5. P. 588–591.
2. Faber J.W., Boukens B.J., Oostra R.J., Moorman A.F., Christoffels V.M., Jensen B. Sinus venosus incorporation: contentious issues and operational criteria for developmental and evolutionary studies // *J. Anat.* 2019. Vol. 234. N 5. P. 583–591.
3. van Eif V.W.W., Stefanovic S., van Duijvenboden K., Bakker M., Wakker V, de Gier-de Vries C., Zaffran S., Verkerk A.O., Boukens B.J., Christoffels V.M. Transcriptome analysis of mouse and human sinoatrial node cells reveals a conserved genetic program // *Dev.* 2019. Vol. 146. N 8: dev173161.
4. Sizarov A., Devalla H.D., Anderson R.H., Passier R., Christoffels V.M., Moorman A.F. Molecular analysis of patterning of conduction tissues in the developing human heart // *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.* 2011. Vol. 4. N 4. P. 532–542.
5. Burdsal C.A., Damsky C.H., Pedersen R.A. The role of E-cadherin and integrins in mesoderm differentiation and migration at the mammalian primitive streak // *Dev.* 1993. Vol. 118. N 3. P. 829–844.
6. Cai W., Guzzo R.M., Wei K., Willems E., Davidovics H., Mercola M. A Nodal-to-TGF β cascade exerts biphasic control over cardiopoiesis // *Circ. Res.* 2012. Vol. 111. N 7. P. 876–881.
7. Mazzotta S., Neves C., Bonner R.J., Bernardo A.S., Docherty K., Hoppler S. Distinctive roles of canonical and noncanonical Wnt signaling in human embryonic cardiomyocyte development // *Stem cell reports.* 2016. Vol. 7. N 4. P. 764–776.
8. Steinhart Z., Angers S. Wnt signaling in development and tissue homeostasis // *Dev.* 2018. Vol. 145. N 11: dev146589.

9. Zaffran S., Frasch M. Early signals in cardiac development // *Circ. Res.* 2002. Vol. 91. N 6. P. 457–469.
10. Ciruna B., Rossant J. FGF signaling regulates mesoderm cell fate specification and morphogenetic movement at the primitive streak // *Dev. Cell.* 2001. Vol. 1. N 1. P. 37–49.
11. Moorman A.F.M., Christoffels V.M., Anderson R.H., van den Hoff M.J. The heart-forming fields: One or multiple? // *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 2007. Vol. 362. N 1484. P. 1257–1265.
12. Stalsberg H., DeHaan R.L. The precardiac areas and formation of the tubular heart in the chick embryo // *Dev. Biol.* 1969. Vol. 19. N 2. P. 128–159.
13. Tyser R.C., Miranda A.M., Chen C.-M., Davidson S.M., Srinivas S., Riley P.R. Calcium handling precedes cardiac differentiation to initiate the first heartbeat // *Elife.* 2016. Vol. 5: e17113.
14. Patten B.M. Initiation and early changes in the character of the heart beat in vertebrate embryos // *Physiol. Rev.* 1949. Vol. 29. N 1. P. 31–47.
15. Forouhar A.S., Liebling M., Hickerson A., Nasiraei-Moghaddam A., Tsai H.J., Hove J.R., Fraser S.E., Dickinson M.E., Gharib M. The embryonic vertebrate heart tube is a dynamic suction pump // *Science.* 2006. Vol. 312. N 5774. P. 751–753.
16. Van Mierop L.H. Location of pacemaker in chick embryo heart at the time of initiation of heartbeat // *Am. J. Physiol.* 1967. Vol. 212. N 2. P. 407–415.
17. Groot A.C.G., Bartelings M.M., Poelmann R.E., Haak M.C., Jongbloed M.R. Embryology of the heart and its impact on understanding fetal and neonatal heart disease // *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2013. Vol. 18. N 5. P. 237–244.
18. Später D., Abramczuk M.K., Buac K., Zangi L., Stachel M.W., Clarke J., Sahara M., Ludwig A., Chien K.R. A HCN4+ cardiomyogenic progenitor derived from the first heart field and human pluripotent stem cells // *Nat. Cell Biol.* 2013. Vol. 15. N 9. P. 1098–1106.
19. Garcia-Frigola C., Shi Y., Evans S.M. Expression of the hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channel HCN4 during mouse heart development // *Gene Expr. Patterns.* 2003. Vol. 3. N 6. P. 777–783.
20. Christoffels V.M., Mommersteeg M.T.M., Trowe M.-O., Prall O.W., de Gier-de Vries C., Soufan A.T., Bussen M., Schuster-Gossler K., Harvey R.P., Moorman A.F., Kispert A. Formation of the venous pole of the heart from an Nkx2-5-negative precursor population requires Tbx18 // *Circ. Res.* 2006. Vol. 98. N 12. P. 1555–1563.
21. DiFrancesco D. The role of the funny current in pacemaker activity // *Circ. Res.* 2010. Vol. 106. N 3. P. 434–446.
22. Aminu A.J., Petkova M., Atkinson A.J., Yanni J., Morris A.D., Simms R.T., Chen W., Yin Z., Kuniewicz M., Holda M.K., Kuzmin V.S. Further insights into the molecular complexity of the human sinus node – the role of “novel” transcription factors and microRNAs // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2021. Vol. 15: S0079-6107(21)00038-9.
23. Jensen B., Vesterskov S., Boukens B.J., Nielsen J.M., Moorman A.F., Christoffels V.M., Wang T. Morpho-functional characterization of the systemic venous pole of the reptile heart // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. N 1: 6644.
24. Mommersteeg M.T.M., Hoogaars W.M.H., Prall O.W.J., de Gier-de Vries C., Wiese C., Clout D.E., Pappoianou V.E., Brown N.A., Harvey R.P., Moorman A.F., Christoffels V.M. Molecular pathway for the localized formation of the sinoatrial node // *Circ. Res.* 2007. Vol. 100. N 3. P. 354–362.
25. Sylva M., Hoff M.J.B. Van Den, Moorman A.F.M. Development of the human heart // *Am. J. Med. Genet. A.* 2014. Vol. 164A. N 6. P. 1347–1371.
26. Zhou B., Ma Q., Rajagopal S., Domian I., Rivera-Feliciano J., Jiang D., von Gise A., Ikeda S., Chien K.R., Pu W.T. Epicardial progenitors contribute to the cardiomyocyte lineage in the developing heart // *Nature.* 2008. Vol. 454. N 7200. P. 109–113.
27. Moorman A.F.M., Christoffels V.M. Cardiac chamber formation: Development, genes, and evolution // *Physiol. Rev.* 2003. Vol. 83. N 4. P. 1223–1267.
28. Buckingham M., Meilhac S., Zaffran S. Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells // *Nat. Rev. Genet.* 2005. Vol. 6. N 11. P. 826–835.
29. Cai C.-L., Liang X., Shi Y., Chu P.H., Pfaff S.L., Chen J., Evans S. Isl1 identifies a cardiac progenitor population that proliferates prior to differentiation and contributes a majority of cells to the heart // *Dev. Cell.* 2003. Vol. 5. N 6. P. 877–889.
30. Snarr B.S., O’Neal J.L., Chintalapudi M.R., Wirrig E.E., Phelps A.L., Kubalak S.W., Wessels A. Isl1 expression at the venous pole identifies a novel role for the second heart field in cardiac development // *Circ. Res.* 2007. Vol. 101. N 10. P. 971–974.
31. Galli D., Domínguez J.N., Zaffran S., Munk A., Brown N.A., Buckingham M.E. Atrial myocardium derives from the posterior region of the second heart field, which acquires left-right identity as Pitx2c is expressed // *Dev.* 2008. Vol. 135. N 6. P. 1157–1167.
32. Douglas Y.L., Jongbloed M.R.M., Deruiter M.C., Gittenberger-de Groot A.C. Normal and abnormal development of pulmonary veins: state of the art and correlation with clinical entities // *Int. J. Cardiol.* 2011. Vol. 147. N 1. P. 13–24.
33. Kelly R.G., Brown N.A., Buckingham M.E. The arterial pole of the mouse heart forms from Fgf10-expressing cells in pharyngeal mesoderm // *Dev. Cell.* 2001. Vol. 1. N 3. P. 435–440.
34. Van Den Berg G., Abu-Issa R., De Boer B.A., Hutson M.R., de Boer P.A., Soufan A.T., Ruijter J.M., Kirby M.L., van den Hoff M.J., Moorman A.F. A caudal proliferating growth center contributes to both poles of the forming heart tube // *Circ. Res.* 2009. Vol. 104. N 2. P. 179–188.
35. Mommersteeg M.T.M., Domínguez J.N., Wiese C., Norden J., De Gier-De Vries C., Burch J.B., Kispert A., Brown N.A., Moorman A.F., Christoffels V.M. The sinus venosus progenitors separate and diversify from the first and second heart fields early in development // *Cardiovasc. Res.* 2010. Vol. 87. N 1. P. 92–101.
36. Bondue A., Blanpain C. Mesp1: a key regulator of cardiovascular lineage commitment // *Circ. res.* 2010. Vol. 107. N 12. P. 575–578.
37. Groot A.C.G., Mahtab E.A.F., Hahurij N.D., Wisse L.J., Deruiter M.C., Wijffels M.C., Poelmann R.E. Nkx2-5-negative myocardium of the posterior heart field and its correlation with podoplanin expression in cells from the developing cardiac pacemaking and conduction system // *Anat. Rec.* 2007. Vol. 290. N 1. P. 115–122.
38. Stefanovic S., Christoffels V.M. GATA-dependent transcriptional and epigenetic control of cardiac lineage

- specification and differentiation // *Cell. Mol. Life Sci.* 2015. Vol. 72. N 20. P. 3871–3881.
39. Ma Q., Zhou B., Pu W.T. Reassessment of Isl1 and Nkx2-5 cardiac fate maps using a Gata4-based reporter of Cre activity // *Dev. Biol.* 2008. Vol. 323. N 1. P. 98–104.
40. Wiese C., Grieskamp T., Airik R., Mommersteeg M.T., Gardiwal A., de Gier-de Vries C., Schuster-Gossler K., Moorman A.F., Kispert A., Christoffels V.M. Formation of the sinus node head and differentiation of sinus node myocardium are independently regulated by Tbx18 and Tbx3 // *Circ. Res.* 2009. Vol. 104. N 3. P. 388–397.
41. Sizarov A., Anderson R.H., Christoffels V.M., Moorman A.F. Three-dimensional and molecular analysis of the venous pole of the developing human heart // *Circulation.* 2010. Vol. 122. N 8. P. 798–807.
42. Anderson R.H., Brown N.A., Moorman A.F.M. Development and structures of the venous pole of the heart // *Dev. Dyn.* 2006. Vol. 235. N 1. P. 2–9.
43. Кузьмин В.С., Алексеева Н.В., Розенштраух Л.В. Миокардиальная ткань торакальных вен позвоночных животных: происхождение и контроль биоэлектрических свойств // *Усп. физиол. наук.* 2017. Т. 48. №3. С. 3–28.
44. Wessels A., Sedmera D. Developmental anatomy of the heart: a tale of mice and man // *Physiol. Genomics.* 2003. Vol. 15. N 3. P. 165–176.
45. Singh R., Hoogaars W.M., Barnett P., Grieskamp T., Rana M.S., Buermans H., Farin H.F., Petry M., Heallen T., Martin J.F., Moorman A.F. Tbx2 and Tbx3 induce atrioventricular myocardial development and endocardial cushion formation // *Cell. Mol. Life Sci.* 2012. Vol. 69. N 8. P. 1377–1389.
46. Liang X., Wang G., Lin L., Lowe J., Zhang Q., Bu L., Chen Y., Chen J., Sun Y., Evans S.M. HCN4 dynamically marks the first heart field and conduction system precursors // *Circ. Res.* 2013. Vol. 113. N 4. P. 399–407.
47. Sun C., Yu D., Ye W., Liu C., Gu S., Sinsheimer N.R., Song Z., Li X., Chen C., Song Y., Wang S. The short stature homeobox 2 (Shox2)-bone morphogenetic protein (BMP) pathway regulates dorsal mesenchymal protrusion development and its temporary function as a pacemaker during cardiogenesis // *J. Biol. Chem.* 2015. Vol. 290. N 4. P. 2007–2023.
48. Ivanova A.D., Samoilova D. V., Razumov A.A., Kuzmin V.S. Rat caval vein myocardium undergoes changes in conduction characteristics during postnatal ontogenesis // *Pflugers Arch.* 2019. Vol. 471. N 11–12. P. 1493–1503.
49. Van Mierop L.H., Gessner I.H. The morphologic development of the sinoatrial node in the mouse // *Am. J. Cardiol.* 1970. Vol. 25. N 2. P. 204–212.
50. Kuzmin V.S., Ivanova A.D., Potekhina V.M., Samoilova D.V., Ushenin K.S., Shvetsova A.A., Petrov A.M. The susceptibility of the rat pulmonary and caval vein myocardium to the catecholamine-induced ectopy changes oppositely in postnatal development // *J. Physiol.* 2021. Vol. 599. N 11. P. 2803–2821.
51. Hoogaars W.M.H., Engel A., Brons J.F., Verkerk A.O., de Lange F.J., Wong L.E., Bakker M.L., Clout D.E., Wakker V., Barnett P., Ravesloot J.H. Tbx3 controls the sinoatrial node gene program and imposes pacemaker function on the atria // *Genes Dev.* 2007. Vol. 21. N 9. P. 1098–1112.
52. Hoogaars W.M.H., Tessari A., Moorman A.F.M., de Boer P.A., Hagoort J., Soufan A.T., Campione M., Christoffels V.M. The transcriptional repressor Tbx3 delineates the developing central conduction system of the heart // *Cardiovasc. Res.* 2004. Vol. 62. N 3. P. 489–499.
53. Frank D.U., Carter K.L., Thomas K.R., Burr R.M., Bakker M.L., Coetzee W.A., Tristani-Firouzi M., Bamshad M.J., Christoffels V.M., Moon A.M. Lethal arrhythmias in Tbx3-deficient mice reveal extreme dosage sensitivity of cardiac conduction system function and homeostasis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012. Vol. 109. N 3. P. E154–E163.
54. Mohan R.A., Mommersteeg M.T.M., Domínguez J.N., Choquet C., Wakker V., de Gier-de Vries C., Boink G.J., Boukens B.J., Miquerol L., Verkerk A.O., Christoffels V.M. Embryonic Tbx3⁺ cardiomyocytes form the mature cardiac conduction system by progressive fate restriction // *Dev.* 2018. Vol. 145. N 17: dev167361.
55. Bakker M.L., Boink G.J.J., Boukens B.J., Verkerk A.O., van den Boogaard M., den Haan A.D., Hoogaars W.M., Buermans H.P., de Bakker J.M., Seppen J., Tan H.L. T-box transcription factor TBX3 reprogrammes mature cardiac myocytes into pacemaker-like cells // *Cardiovasc. Res.* 2012. Vol. 94. N 3. P. 439–449.
56. Wu M., Peng S., Yang J., Tu Z., Cai X., Cai C.L., Wang Z., Zhao Y. Baf250a orchestrates an epigenetic pathway to repress the Nkx2.5-directed contractile cardiomyocyte program in the sinoatrial node // *Cell Res.* 2014. Vol. 24. N 10. P. 1201–1213.
57. Christoffels V.M., Hoogaars W.M.H., Tessari A., Clout D.E., Moorman A.F., Campione M. T-Box transcription factor Tbx2 represses differentiation and formation of the cardiac chambers // *Dev. Dyn.* 2004. Vol. 229. N 4. P. 763–770.
58. Ivanova A.D., Filatova T.S., Abramochkin D.V., Atkinson A., Dobrzynski H., Kokaeva Z.G., Merzlyak E.M., Pustovit K.B., Kuzmin V.S. Attenuation of inward rectifier potassium current contributes to the α 1-adrenergic receptor-induced proarrhythmicity in the caval vein myocardium // *Acta Physiol. (Oxf).* 2021. Vol. 231. N 4: e13597.
59. Domínguez J.N., Meilhac S.M., Bland Y.S., Buckingham M.E., Brown N.A. Asymmetric fate of the posterior part of the second heart field results in unexpected left/right contributions to both poles of the heart // *Circ. Res.* 2012. Vol. 111. N 10. P. 1323–1335.
60. Franco D., Campione M. The role of Pitx2 during cardiac development. Linking left-right signaling and congenital heart diseases // *Trends Cardiovasc. Med.* 2003. Vol. 13. N 4. P. 157–163.
61. Wang J., Klysiak E., Sood S., Johnson R.L., Wehrens X.H., Martin J.F. Pitx2 prevents susceptibility to atrial arrhythmias by inhibiting left-sided pacemaker specification // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010. Vol. 107. N 21. P. 9753–9758.
62. Durocher D., Dé F., Charron R., Schwartz R.J., Nemer M. The cardiac transcription factors Nkx2-5 and GATA-4 are mutual cofactors have been shown to alter transcription of target genes via binding to the consensus WGATAR sequence through a DNA-binding domain consisting of two adjacent zinc // *EMBO J.* 1997. Vol. 16. N 18. P. 5687–5696.
63. Garg V., Kathiriya I.S., Barnes R., Schluterman M.K., King I.N., Butler C.A., Rothrock C.R., Eapen R.S., Hirayama-Yamada K., Joo K., Matsuoka R. GATA4 mutations cause human congenital heart defects and reveal an interaction with TBX5 // *Nature.* 2003. Vol. 424. N 6947. P. 443–447.

64. Habets P.E.M.H., Moorman A.F.M., Clout D.E.W., van Roon M.A., Lingbeek M., van Lohuizen M., Campione M., Christoffels V.M. Cooperative action of Tbx2 and Nkx2.5 inhibits ANF expression in the atrioventricular canal: implications for cardiac chamber formation // *Genes Dev.* 2002. Vol. 16. N 10. P. 1234–1246.
65. Blaschke R.J., Hahurij N.D., Kuijper S., Just S., Wisse L.J., Deissler K., Maxelon T., Anastassiadis K., Spitzer J., Hardt S.E., Schöler H. Targeted mutation reveals essential functions of the homeodomain transcription factor Shox2 in sinoatrial and pacemaking development // *Circulation.* 2007. Vol. 115. N 14. P. 1830–1838.
66. Hoffmann S., Berger I.M., Glaser A., Bacon C., Li L., Gretz N., Steinbeisser H., Rottbauer W., Just S., Rappold G. Islet1 is a direct transcriptional target of the homeodomain transcription factor Shox2 and rescues the Shox2-mediated bradycardia // *Basic Res. Cardiol.* 2013. Vol. 108. N 2: 339.
67. van Eif V.W.W., Devalla H.D., Boink G.J.J., Christoffels V.M. Transcriptional regulation of the cardiac conduction system // *Nat. Rev. Cardiol.* 2018. Vol. 15. N 10. P. 617–630.
68. Ye W., Wang J., Song Y., Yu D., Sun C., Liu C., Chen F., Zhang Y., Wang F., Harvey R.P., Schrader L. A common Shox2-Nkx2-5 antagonistic mechanism primes the pacemaker cell fate in the pulmonary vein myocardium and sinoatrial node // *Dev.* 2015. Vol. 142. N 14. P. 2521–2532.
69. Potekhina V.M., Averina O.A., Razumov A.A., Kuzmin V.S., Rozenshtaukh L.V. The local repolarization heterogeneity in the murine pulmonary veins myocardium contributes to the spatial distribution of the adrenergically induced ectopic foci // *J. Physiol. Sci.* 2019. Vol. 69. N 6. P. 1041–1055.
70. Espinoza-lewis R.A., Yu L., He F., Liu H., Tang R., Shi J., Sun X., Martin J.F., Wang D., Yang J., Chen Y. Shox2 is essential for the differentiation of cardiac pacemaker cells by repressing Nkx2-5 // *Dev. Biol.* 2009. Vol. 327. N 2. P. 376–385.
71. van Wijk B., Moorman A.F.M., van den Hoff M.J.B. Role of bone morphogenetic proteins in cardiac differentiation // *Cardiovasc. Res.* 2007. Vol. 74. N 2. P. 244–255.
72. Ma L., Lu M.-F., Schwartz R.J., Martin J.F. Bmp2 is essential for cardiac cushion epithelial-mesenchymal transition and myocardial patterning // *Dev.* 2005. Vol. 132. N 24. P. 5601–5611.
73. Puskaric S., Schmitteckert S., Mori A.D., Glaser A., Schneider K.U., Bruneau B.G., Blaschke R.J., Steinbeisser H., Rappold G. Shox2 mediates Tbx5 activity by regulating Bmp4 in the pacemaker region of the developing heart // *Hum. Mol. Genet.* 2010. Vol. 19. N 23. P. 4625–4633.
74. Wu L., Du J., Jing X., Yan Y., Deng S., Hao Z., She Q. Bone morphogenetic protein 4 promotes the differentiation of Tbx18-positive epicardial progenitor cells to pacemaker-like cells // *Exp. Ther. Med.* 2019. Vol. 17. N 4. P. 2648–2656.
75. Willert K., Nusse R. Wnt proteins // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012. Vol. 4. N 9: a007864.
76. Nusse R. Wnt signaling in disease and in development // *Cell Res.* 2005. Vol. 15. N 1. P. 28–32.
77. Valenta T., Hausmann G., Basler K. The many faces and functions of β -catenin // *EMBO J.* 2012. Vol. 31. N 12. P. 2714–2736.
78. Hoppler S., Mazzotta S., Kühl M. Wnt Signaling in heart organogenesis // *Wnt signaling in development and disease: Molecular mechanisms and biological functions* / Eds. S. Hoppler and R.T. Moon. John Wiley & Sons, 2014. P. 293–301.
79. Norden J., Greulich F., Rudat C., Taketo M.M., Kispert A. Wnt/ β -catenin signaling maintains the mesenchymal precursor pool for murine sinus horn formation // *Circ. Res.* 2011. Vol. 109. N 6. P. 42–50.
80. Cohen E.D., Miller M.F., Wang Z., Moon R.T., Morrisey E.E. Wnt5a and wnt11 are essential for second heart field progenitor development // *Dev.* 2012. Vol. 139. N 11. P. 1931–1940.
81. Martínez-Estrada O.M., Lettice L.A., Essafi A., Guadix J.A., Slight J., Vevelcel V., Hall E., Reichmann J., Devenney P.S., Hohenstein P., Hosen N. Wt1 is required for cardiovascular progenitor cell formation through transcriptional control of Snail and E-cadherin // *Nat. Genet.* 2010. Vol. 42. N 1. P. 89–93.
82. Norden J., Grieskamp T., Lausch E., van Wijk B., van den Hoff M.J., Englert C., Petry M., Mommersteeg M.T., Christoffels V.M., Niederreither K., Kispert A. Wt1 and retinoic acid signaling in the subcoelomic mesenchyme control the development of the pleuropericardial membranes and the sinus horns // *Circ. Res.* 2010. Vol. 106. N 7. P. 1212–1220.
83. Niederreither K., Vermot J., Messaddeq N., Schuhbauer B., Chambon P., Dollé P. Embryonic retinoic acid synthesis is essential for heart morphogenesis in the mouse // *Dev.* 2001. Vol. 128. N 7. P. 1019–1031.
84. Kidd T., Bland K.S., Goodman C.S. Slit is the midline repellent for the robo receptor in *Drosophila* // *Cell.* 1999. Vol. 96. N 6. P. 785–794.
85. Jones C.A., London N.R., Chen H., Park K.W., Sauvaget D., Stockton R.A., Wythe J.D., Suh W., Larrieu-Lahargue F., Mukoyama Y.S., Lindblom P. Robo4 stabilizes the vascular network by inhibiting pathologic angiogenesis and endothelial hyperpermeability // *Nat. Med.* 2008. Vol. 14. N 4. P. 448–453.
86. Ypsilanti A.R., Zagar Y., Chédotal A. Moving away from the midline: new developments for Slit and Robo // *Dev.* 2010. Vol. 137. N 12. P. 1939–1952.
87. Zhao J., Mommersteeg M.T.M. Slit-Robo signalling in heart development // *Cardiovasc. Res.* 2018. Vol. 114. N 6. P. 794–804.
88. Kruszka P., Tanpaiboon P., Neas K., Crosby K., Berger S.I., Martinez A.F., Addissie Y.A., Pongprot Y., Sittiwangkul R., Silvilairat S., Makonkawkeyoon K. Loss of function in ROBO1 is associated with tetralogy of Fallot and septal defects // *J. Med. Genet.* 2017. Vol. 54. N 12. P. 825–829.
89. Mommersteeg M.T.M., Andrews W.D., Ypsilanti A.R., Zelina P., Yeh M.L., Norden J., Kispert A., Chédotal A., Christoffels V.M., Parnavelas J.G. Slit-roundabout signaling regulates the development of the cardiac systemic venous return and pericardium // *Circ. Res.* 2013. Vol. 112. N 3. P. 465–475.
90. Medioni C., Bertrand N., Mesbah K., Hudry B., Dupays L., Wolstein O., Washkowitz A.J., Papaioannou V.E., Mohun T.J., Harvey R.P., Zaffran S. Expression of Slit and Robo genes in the developing mouse heart // *Dev. Dyn.* 2010. Vol. 239. N 12. P. 3303–3311.
91. Astarita J., Acton S., Turley S. Podoplanin: emerging functions in development, the immune system, and cancer // *Front. Immunol.* 2012. Vol. 3: 283.

92. Quintanilla M., Montero-Montero L., Renart J., Martín-Villar E. Podoplanin in inflammation and cancer // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20. N 707: ijms20030707.
93. Mahtab E.A.F., Vicente-Steijn R., Hahurij N.D., Jongbloed M.R., Wisse L.J., DeRuiter M.C., Uhrin P., Zaujec J., Binder B.R., Schalij M.J., Poelmann R.E. Podoplanin deficient mice show a RhoA-related hypoplasia of the sinus venosus myocardium including the sinoatrial node // *Dev. Dyn.* 2009. Vol. 238. N 1. P. 183–193.
94. Mahtab E.A.F., Wijffels M.C.E.F., Van Den Akker N.M.S., Hahurij N.D., Lie-Venema H., Wisse L.J., DeRuiter M.C., Uhrin P., Zaujec J., Binder B.R., Schalij M.J. Cardiac malformations and myocardial abnormalities in podoplanin knockout mouse embryos: correlation with abnormal epicardial development // *Dev. Dyn.* 2008. Vol. 237. N 3. P. 847–857.
95. Martín-Villar E., Megías D., Castel S., Yurrita M.M., Vilaró S., Quintanilla M. Podoplanin binds ERM proteins to activate RhoA and promote epithelial-mesenchymal transition // *J. Cell Sci.* 2006. Vol. 119. N 21. P. 4541–4553.
96. Amin E., Dubey B.N., Zhang S.-C., Gremer L., Dvorsky R., Moll J.M., Taha M.S., Nagel-Steger L., Piekorz R.P., Somlyo A.V., Ahmadian M.R. Rho-kinase: regulation, (dys)function, and inhibition // *Biol. Chem.* 2013. Vol. 394. N 11. P. 1399–1410.
97. Vicente-Steijn R., S M., Kolditz D.P., Askar S.F., Bax N.A., Van Der Graaf L.M., Wisse L.J., Passier R., Pijnappels D.A., Schalij M.J., Poelmann R.E. Electrical activation of sinus venosus myocardium and expression patterns of RhoA and Isl-1 in the chick embryo // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2010. Vol. 21. N 11. P. 1284–1292.
98. Vicente-Steijn R., Kelder T.P., Tertoolen L.G., Wisse L.J., Pijnappels D.A., Poelmann R.E., Schalij M.J., deRuiter M.C., Gittenberger-de Groot A.C., Jongbloed M.R. RHOA-ROCK signalling is necessary for lateralization and differentiation of the developing sinoatrial node // *Cardiovasc. Res.* 2017. Vol. 113. N 10. P. 1186–1197.
99. Carmeliet P., Ng Y.S., Nuyens D., Theilmeier G., Brusselmans K., Cornelissen I., Ehler E., Kakkar V.V., Stalmans I., Mattot V., Perriard J.C. Impaired myocardial angiogenesis and ischemic cardiomyopathy in mice lacking the vascular endothelial growth factor isoforms VEGF164 and VEGF188 // *Nat. Med.* 1999. Vol. 5. N 5. P. 495–502.
100. van den Akker N.M.S., Caolo V., Molin D.G.M. Cellular decisions in cardiac outflow tract and coronary development: an act by VEGF and NOTCH // *Differentiation.* 2012. Vol. 84. N 1. P. 62–78.
101. Calkoen E.E., Vicente-Steijn R., Hahurij N.D., van Munsteren C.J., Roest A.A., DeRuiter M.C., Steendijk P., Schalij M.J., Gittenberger-de Groot A.C., Blom N.A., Jongbloed M.R. Abnormal sinoatrial node development resulting from disturbed vascular endothelial growth factor signaling // *Int. J. Cardiol.* 2015. Vol. 183. P. 249–257.
102. Hellström M., Phng L.-K., Gerhardt H. VEGF and Notch signaling: the yin and yang of angiogenic sprouting // *Cell Adh. Migr.* 2007. Vol. 1. N 3. P. 133–136.
103. Wang Y., Wu B., Lu P., Zhang D., Wu B., Varshney S., del Monte-Nieto G., Zhuang Z., Charafeddine R., Kramer A.H., Sibinga N.E. Uncontrolled angiogenic precursor expansion causes coronary artery anomalies in mice lacking Pofut1 // *Nat. Commun.* 2017. Vol. 8. N 1: 578.
104. Wang Y., Lu P., Jiang L., Wu B., Zhou B. Control of sinus venosus valve and sinoatrial node development by endocardial NOTCH1 // *Cardiovasc. Res.* 2020. Vol. 116. N 8. P. 1473–1486.
105. Van Den Akker N.M.S., Lie-Venema H., Maas S., Eralp I., DeRuiter M.C., Poelmann R.E., Gittenberger-De Groot A.C. Platelet-derived growth factors in the developing avian heart and maturing coronary vasculature // *Dev. Dyn.* 2005. Vol. 233. N 4. P. 1579–1588.
106. Bax N.A.M., Bleyl S.B., Gallini R., Wisse L.J., Hunter J., Van Oorschot A.A., Mahtab E.A., Lie-Venema H., Goumans M.J., Betsholtz C., Gittenberger-de Groot A.C. Cardiac malformations in Pdgfra mutant embryos are associated with increased expression of WT1 and Nkx2.5 in the second heart field // *Dev. Dyn.* 2010. Vol. 239. N 8. P. 2307–2317.
107. Zheng X., Wang F., Hu X., Li H., Guan Z., Zhang Y., Hu X. PDGFR α -signaling is dispensable for the development of the sinoatrial node after its fate commitment // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. Vol. 9: 647165.
108. Zhao H., Wang F., Zhang W., Yang M., Tang Y., Wang X., Zhao Q., Huang C. Overexpression of TBX3 in human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) increases their differentiation into cardiac pacemaker-like cells // *Biomed. Pharmacother.* 2020. Vol. 130: 110612.
109. Gorabi A.M., Hajighasemi S., Khori V., Soleimani M., Rajaei M., Rabbani S., Atashi A., Ghiaseddin A., Saeid A.K., Tafti H.A., Sahebkar A. Functional biological pacemaker generation by T-Box18 protein expression via stem cell and viral delivery approaches in a murine model of complete heart block // *Pharmacol. Res.* 2019. Vol. 141. P. 443–450.
110. Schweizer P.A., Darce F.F., Ullrich N.D., Geschwill P., Greber B., Rivinius R., Seyler C., Müller-Decker K., Draguhn A., Utikal J., Koenen M. Subtype-specific differentiation of cardiac pacemaker cell clusters from human induced pluripotent stem cells // *Stem Cell Res. Ther.* 2017. Vol. 8. N 1: 229.
111. Naumova N., Iop L. Bioengineering the cardiac conduction system: advances in cellular, gene, and tissue engineering for heart rhythm regeneration // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021. Vol. 9: 673477.
112. Protze S.I., Liu J., Nussinovitch U., Ohana L., Backx P.H., Gepstein L., Keller G.M. Sinoatrial node cardiomyocytes derived from human pluripotent cells function as a biological pacemaker // *Nat. Biotechnol.* 2017. Vol. 35. N 1. P. 56–68.
113. Cingolani E., Goldhaber J.I., Marbán E. Next-generation pacemakers: from small devices to biological pacemakers // *Nat. Rev. Cardiol.* 2018. Vol. 15. N 3. P. 139–150.
114. Quan D., Huang H. In vitro study of the effects of reprogramming neonatal rat fibroblasts transfected with TBX18 on spontaneous beating in neonatal rat cardiomyocytes // *Mol. Med. Rep.* 2018. Vol. 18. N 6. P. 5520–5526.
115. Zhang J., Huang C. A new combination of transcription factors increases the harvesting efficiency of pacemaker-like cells // *Mol. Med. Rep.* 2019. Vol. 19. N 5. P. 3584–3592.
116. Goodyer W.R., Beyersdorf B.M., Paik D.T., Tian L., Li G., Buikema J.W., Chirikian O., Choi S., Venkatraman S., Adams E.L., Tessier-Lavigne M. Transcriptomic profiling of the developing cardiac conduction system at single-cell resolution // *Circ. Res.* 2019. Vol. 125. N 4. P. 379–397.

Поступила в редакцию 29.07.2021

После доработки 16.09.2021

Принята в печать 16.10.2021

REVIEW

The molecular and cellular mechanisms of the heart pacemaker development in vertebrates

V.S. Kuzmin* , A.A. Kamensky

Department of Human and Animal Physiology, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory 1–12, Moscow, 119234, Russia

**e-mail: kuzmin@mail.bio.msu.ru*

A small cohort of a specialized myocytes in the intercaval region constitutes a dominant heart pacemaker, so called sinoatrial node (SAN). The SAN determines proper heart automaticity throughout life in mammals including human. A complicative histological organization, specific electrophysiology of pacemaker cardiomyocytes and unique genes expression pattern underlie SAN functioning. The development of the SAN starts very early in embryogenesis and continue till late prenatal period. The clarification of molecular mechanisms that underlie SAN origin facilitates bio-artificial pacemakers development, understanding of many cardiovascular diseases including hereditary, developmental or acquired arrhythmias. In addition, the advance in cardiac or somatic cell reprogramming that result from the understanding of SAN embryogenesis promotes cardiac cell-based repair, cell therapy and reversion of pathological remodeling in the heart. To date, a significant progress is achieved in the field of genetic and molecular pathways identification that control pacemaker calls nature, govern morphological and functional maturation of the cardiac pacemaker during ontogenesis. In this review a detailed overview of the key transcription factors, morphogenetic signaling molecules (BMP, podoplanin, VEGF, PDGF) and regulatory pathways (Wnt, Wt1, Slit/Robo, RhoA) involved in (epi)genetic control of the pacemaker myocytes progenitors specification and differentiation, as well as in the functional SAN development is presented.

Keywords: *heart, pacemaker, sinus venosus, sinoatrial node, ontogenesis, transcriptional control, automaticity, electrophysiological phenotype, review*

Funding: The research was funded by Russian Foundation for Basic Research, project number 20-14-50459.

Сведения об авторах

Кузьмин Владислав Стефанович – канд. биол. наук, доц. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: *kuzmin@mail.bio.msu.ru*; ORCID <http://orcid.org/0000-0003-3075-4834>

Каменский Андрей Александрович – докт. биол. наук, зав. кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: *kamensky_msu@mail.ru*