

DOI: <https://doi.org/10.17816/PED15571-80>

Стимуляция эпикарда в качестве источника репарации миокарда: от эксперимента к клинической практике

Е.В. Тимофеев, Я.Э. Булавко

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Смертность от инфаркта миокарда и его осложнений — нарушений сердечного ритма, ремоделирования миокарда с последующим развитием застойной сердечной недостаточности — занимает лидирующее место в мире. В качестве одного из способов предотвращения ремоделирования сердца активно изучают активацию эпикарда. Метод основан на способности клеток эмбрионального эпикарда к эпителиально-мезенхимальной трансформации, в результате которой образованные клетки-производные эпикарда дают начало различным цитологическим линиям — сердечным фибробластам, гладкомышечным клеткам сосудистой стенки, адипоцитам и кардиомиоцитам. В постнатальном периоде этот регенераторный потенциал отсутствует. В настоящее время разработаны различные методики активации репаративного потенциала эпикарда с использованием вариантов генетического перепрограммирования клеток эпикарда с помощью вирусных векторов, воздействием паракринных факторов, участвующих в формировании сердца и его структур — факторами транскрипции *GATA4*, *GATA6*, тимозином $\beta 4$, введением эмбриональных стволовых клеток или индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в составе тканеинженерных конструкций, активацией факторов роста фибробластов (*FGF*), и тромбоцитарного фактора роста (*PDGF*). Эти методы активно изучаются на экспериментальных моделях инфаркта миокарда и показали свою высокую эффективность *in vitro*. Результаты трансплантации тканеинженерных конструкций во время проведения аортокоронарного шунтирования пациентам с тяжелой постинфарктной сердечной недостаточностью показывают перспективность в плане замедления ремоделирования миокарда.

Ключевые слова: эпикард; регенерация; репарация; инфаркт миокарда; лечение; сердечная недостаточность; фактор роста.

Как цитировать

Тимофеев Е.В., Булавко Я.Э. Стимуляция эпикарда в качестве источника репарации миокарда: от эксперимента к клинической практике // Педиатр. 2024. Т. 15. № 5. С. 71–80. DOI: <https://doi.org/10.17816/PED15571-80>

DOI: <https://doi.org/10.17816/PED15571-80>

Stimulation of the epicardium as a source of myocardial repair: from experiment to clinical practice

Eugene V. Timofeev, Yana E. Bulavko

Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

Mortality from myocardial infarction and its complications — heart rhythm disturbances, myocardial remodeling with subsequent development of congestive heart failure — occupies a leading place in the world. Activation of the epicardium is being actively studied as one of the ways to prevent cardiac remodeling. The method is based on the ability of embryonic epicardial cells to undergo epithelial-mesenchymal transformation, as a result of which the resulting epicardial-derived cells give rise to various cytological lines — cardiac fibroblasts, smooth muscle cells of the vascular wall, adipocytes and cardiomyocytes. In the postnatal period, this regenerative potential is absent. Currently, various methods have been developed to activate the reparative potential of the epicardium using options for genetic reprogramming of epicardial cells using viral vectors, exposure to paracrine factors involved in the formation of the heart and its structures — transcription factors *GATA4*, *GATA6*, thymosin- β 4, introduction of embryonic stem cells or induced pluripotent stem cells in tissue-engineered constructs, activation of fibroblast growth factors (*FGF*), and platelet-derived growth factor (*PDGF*). These methods are being actively studied in experimental models of myocardial infarction and have shown their high efficiency *in vitro*. The results of transplantation of tissue-engineered structures during coronary artery bypass surgery in patients with severe post-infarction heart failure show promise in terms of slowing down myocardial remodeling.

Keywords: epicardium; regeneration; repair; myocardial infarction; treatment; heart failure; growth factor.

To cite this article

Timofeev EV, Bulavko YaE. Stimulation of the epicardium as a source of myocardial repair: from experiment to clinical practice. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2024;15(5):71–80. DOI: <https://doi.org/10.17816/PED15571-80>

Received: 05.08.2024

Accepted: 23.09.2024

Published online: 30.10.2024

ВВЕДЕНИЕ

Сердце и устья крупных сосудов окружены двуслойным серозным мешком — перикардом: наружный слой образован соединительной тканью и прикрепляется к диафрагме, плевре и грудине, внутренний слой образует два листка: висцеральный (эпикард) и париетальный [31]. Иннервация перикарда осуществляется за счет ветвей диафрагмального и блуждающего нервов, а также симпатическими ответвлениями сердечных сплетений. Кровоснабжение боковых и передних отделов перикарда происходит из бассейна внутренней грудной артерии, а питание задней поверхности перикарда обеспечивают перикардиальные ветви, отходящие непосредственно от грудного отдела аорты.

Эпикард представляет собой тонкий слой эпителиальных клеток (эпителий целомического типа), который играет ключевую роль в развитии сердца позвоночных животных. В процессе эмбриогенеза эпикард продуцирует большое количество прогениторных клеток эпикарда (ПКЭ), которые подвергаются эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) [34]. Предполагают, что именно этот процесс является основополагающим для полноценного формирования сердца: подвергшиеся ЭМТ клетки мигрируют в толщу миокарда. Эти клетки дают начало различным типам клеток, включая гладкомышечные клетки сосудистой стенки, сердечные фибробlastы, адипоциты и, возможно, эндотелиальные клетки и субпопуляцию кардиомиоцитов [25]. Кроме того, эпикард участвует в синтезе паракринных факторов, которые обеспечивают рост коронарных сосудов, а также дифференцировку и развитие миокарда [20, 42].

В постнатальном периоде эпикард стабилизируется, не проявляя пролиферативных и промиграционных свойств. Однако в ответ на повреждение эпикардиальные клетки реактивируются по типу эмбриональных, включая экспрессию генов *Wt1* и генетические маркеры ЭМТ (*Tbx18* или *Snai1*) [30, 36, 38, 48]. Пик активности данных генов приходится на 3–5-е сутки после воспроизведенного инфаркта миокарда и сохраняется до 7 дней [23], по некоторым данным, вплоть до 14 дней, охватывая до 75 % эпикардиальных клеток, а затем постепенно снижается [36, 48]. Клетки подвергаются ЭМТ и мигрируют в субэпикардиальное пространство для участия в репарации ткани [9, 19]. Даже зрелое сердце способно к восстановлению миокарда после повреждения, но этот потенциал крайне мал и прогрессивно снижается после рождения [8].

Известно, что для миокарда характерна неполная репарация, имеющая смешанный тип регенерации: внутриклеточный — за счет внутриклеточных структур (гипертрофия) и клеточный — за счет соединительной ткани. После создания ишемических событий возможности дифференцировки ПКЭ в другие типы клеток были доказаны для фибробластов и сердечных адипоцитов [45].

В последующих работах, выполненных на трансгенных мышах, было установлено, что кардиомиоциты также могут происходить из клеток эпикарда [7, 11, 47].

Наряду с активацией эмбриональной генетической программы и миграцией ПКЭ в субэпикардиальное пространство для восполнения клеточного пула, прогениторные клетки эпикарда синтезируют паракринные факторы, которые влияют на формирование ткани, рост и развитие коронарных артерий. В основном это осуществляется за счет факторов роста фибробластов (*FGF*), тромбоцитарного фактора роста (*Platelet-Derived Growth Factor, PDGF*), моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (*Monocyte Chemoattractant Protein 1, MCP-1*), фактора роста эндотелия сосудов (*Vascular Endothelial Growth Factors, VEGF*), фоллистатин-подобного белка-1 (*Follistatin Like 1, FSTL1*) [41, 48]. Под действием комплекса этих факторов повышается пролиферативная активность клеток, улучшается систолическая функция миокарда и усиливается васкуляризация за счет повышения плотности (количества) капилляров в пораженной области [41].

В настоящий момент эндогенная способность взрослых ПКЭ к самостоятельной дифференцировке в кардиомиоциты и эндотелиоциты не представляется возможной для эффективного восполнения пула этих клеток в ответ на повреждающий фактор. Тем не менее описана способность прогениторных клеток трансформироваться в гладкомышечные клетки, перициты, фибробласты и адипоциты. Важная роль также отдается паракринным факторам, которые создают специфическое микроокружение для регенерации ткани сердца.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭПИКАРДА В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКА РЕПАРАЦИИ

Основная задача, которая стоит перед учеными, — это правильное «направление» активации эпикарда: стимуляция процессов регенерации вместо рубцевания и запуск прорегенеративного потенциала вместо провоспалительного. Исследования в этой области основаны на следующих механизмах:

- использование факторов, участвующих в формировании сердца (факторы транскрипции *GATA4* и *GATA6*; ретиноевая кислота и ее рецепторы; факторы роста фибробластов; трансформирующие факторы роста, фактор роста тромбоцитов и другие);
- эпикардиальная трансплантация тканеинженерных конструкций (использование патчей и клеточных пластов, содержащих биоактивные вещества, микропузырьков);
- генетическое перепрограммирование с помощью вирусных векторов;
- использование эмбриональных стволовых клеток или индуцированных плuriпотентных стволовых клеток в составе тканеинженерных конструкций.

Зачастую в современных исследованиях используют комбинацию указанных методов [1]. Первые успешные попытки терапевтического применения были произведены на популяции мышей с помощью воздействия тимозином $\beta 4$. Тимозин $\beta 4$ представляет собой полипептид, влияющий на генетический аппарат клетки. Он способствует регенерации тканей, обладает противовоспалительными свойствами, участвует в ангиогенезе, влияет на дифференцировку стволовых клеток [16]. Недавние исследования продемонстрировали важную роль тимозина $\beta 4$ как в физиологическом формировании сердца, так и при повреждении — у мышей с поврежденным геном сердечного тимозина $\beta 4$ отмечены нарушения развития коронарных артерий и формирования миокарда и эпикарда [29]. После перенесенного повреждения концентрация тимозина $\beta 4$ повышается на ранних этапах процесса регенерации, активируя эмбриональные гены эпикарда, такие как белок опухоли Вилмса (*Wilms tumor 1, WT1*) и транскрипционный фактор *T-box 18* [28]. Активированные эпикардиальные клетки подвергались ЭМТ, которая приводила к усилению их пролиферации, миграции в толщу миокарда к месту повреждения и последующей дифференцировке в клетки сердечно-сосудистой системы [9, 29].

Другой группой исследователей продемонстрировано, что под действием данного полипептида происходит генетическое «перепрограммирование» сердца по эмбриональному типу, характеризующееся неангиогенезом и образованием пула кардиомиоцитов [37]. Ведется также изучение совместного применения тимозина $\beta 4$ и других клеток. В сердцах свиней, перенесших смоделированный инфаркт миокарда, трансплантация кардиомиоцитов, полученных из индуцированных плорипотентных стволовых клеток человека, оказывала минимальное влияние на восстановление миокарда [32]. Однако совместное использование последних с тимозин- $\beta 4$ -микросферами значительно способствовало ангиогенезу и пролиферации кардиомиоцитов и эндотелиоцитов, улучшало систолическую функцию левого желудочка и уменьшало размер некроза [32].

В начале 2000-х годов культивированы эпикардиальные клетки, забранные из ушка правого предсердия человека [35]. Обнаружена способность этих клеток к дифференцировке в гладкомышечные под воздействием *TGF β 1* или при инфицировании их аденоизиусными векторами, экспрессирующих гены, кодирующие транскрипционный фактор миокардин. Однако отмечено, что в процессе культивации эпикардиальные клетки спонтанно претерпевали ЭМТ, приобретая морфологию фибробластов.

В качестве альтернативного варианта был предложен метод синтеза *in vitro* функционально активных ПКЭ из человеческих индуцированных плорипотентных стволовых клеток. Воздействия различными дозами белков сигнального пути *TGF β* позволили контролировать процессы дифференцировки индуцированных плорипотентных

стволовых клеток внутри сердечно-сосудистой линии. Высокие дозы *TGF- β* способствовали уменьшению клеточной линии кардиомиоцитов (которая в конечном итоге полностью исчезла) и экспрессии эпикардиальных маркеров *WT1* и *T-box 18*. После того, как клетки были культивированы и пересевались в течение 4 дней, образовавшиеся ПКЭ сформировали сплошной слой с плотными клеточными контактами на границе клеток. Под воздействием *TGF β 1* и основного фактора роста фибробластов (*bFGF*) клетки претерпели ЭМТ и приобрели характеристики гладкомышечных клеток. При воздействии лишь *bFGF* клетки имели черты только фибробластов. В результате данного исследования был разработан метод получения индуцированных эпикардиальных клеток из индуцированных плорипотентных стволовых клеток, что также дало возможности для развития прецизионной терапии на основе собственных клеток пациента [44].

Были также разработаны и химические методы направления дифференцировки индуцированных плорипотентных стволовых клеток эпикарда в гладкомышечные клетки и фибробласти. Человеческие индуцированные плорипотентные стволовые клетки сначала трансформировались до ранней мезодермы с помощью комбинации факторов, далее под действием *TGF* и *bFGF* происходила дифференцировка в латеральную пластинку мезодермы и появление эпикардиальной линии клеток. Индуцированные проэпикардиальные клетки демонстрировали морфологию эпителиальных клеток и экспрессировали эпикардиальные маркеры (такие как *T-box 18, TCF21* и *WT1*). Эти клетки претерпевали ЭМТ и дифференцировку в гладкомышечные клетки и фибробласти. Вызывает интерес тот факт, что эти клетки не только выжили, но и успешно имплантировались и дифференцировались *in vivo* в эпикарде цыплят [14, 15]. Эти исследования сделали возможным использование выращенных *in vitro* клеток в качестве лечения заболеваний сердца. Во избежание риска иммунногенетической контаминации культивируемых тканей, ассоциированной с высокобелковой питательной средой, в обоих исследованиях использовали безбелковые среды и низкомолекулярные компоненты.

МЕТОДЫ ДОСТАВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ К МЕСТУ ПОВРЕЖДЕНИЯ

На начальных этапах внутрисосудистое введение человеческих ПКЭ мышам проводили непосредственно в область кардиального некроза, что способствовало поддержанию функции сердца со второй и вплоть до шестой недели после инфаркта миокарда. Было отмечено, что ПКЭ незначительно интегрировались в сосудистую стенку и существовали относительно короткий период времени: лишь небольшое количество определялось через 6 нед. Авторы полагают, что вклад ПКЭ в ангиогенез в основном происходит за счет паракринного механизма [43].

В 2018 г. учеными из Москвы была проведена интрамиокардиальная имплантация ПКЭ в область смоделированного инфаркта миокарда у крыс линии Вистар. Клетки сохраняли жизнеспособность в течение двух недель, и часть клеток проявляла признаки ангиогенной дифференцировки. Несмотря на то что различий в размере рубца между группами не было, отмечено уменьшение выраженности ремоделирования левого желудочка, ограничение распространенности трансмурального повреждения и ангиогенеза в периинфарктной зоне. Также увеличилось количество ПКЭ, которые мигрировали в субэпикардиальное пространство и миокард и участвовали в процессах неоваскуляризации [2].

Другие способы, используемые для доставки биоматериалов к месту некроза, — это патчи и гидрогели. Эти формы позволили усовершенствовать применение клеточных и генетических материалов. Эпикардиально наложенные патчи, содержащие биоматериал, расширили возможности стимуляции репарации миокарда на моделях животных. Целесообразность использования этого метода подтверждена экспериментально: аппликация патчей на эпикард не только улучшает свойства ткани, но и создает механическую поддержку, препятствуя дилатации желудочка [27].

При аппликации патчей, обогащенных *bFGF* (ингибитором фиброза), отмечено отсутствие какой-либо иммунологической реакции и повышение фракции выброса по сравнению с контролем ($55,3 \pm 8,0\%$ против $35,1 \pm 7,6\%$; $p < 0,001$). Установлено и положительное влияние на сократимость левого желудочка у крыс, которым проведена аппликация патчей с *bFGF* по сравнению с использованием необогащенных биопатчей (плацебо) и контрольной группой [17].

Показано, что аппликация клеток-предшественников непосредственно на эпикард, в отличие инъекции внутри миокарда, позволяет получить лучшие результаты. В поры напечатанного на 3D-принтере каркаса на основе гиалуроновой кислоты и желатина помещали клетки-предшественники кардиомиоцитов человека. Эпикардиальная аппликация таких сердечных матриц способствовала приживлению клеток, образованию сосудистых компонентов, продукции тропонина I и молекул эпителиальной клеточной адгезии 1 (*PECAM1*, или *CD31*), а также долгосрочному выживанию мышей при моделировании у них инфаркта миокарда [13].

Предпринимались и другие попытки использования коллаген-хитозановых гидрогелей для доставки тимозина $\beta 4$ [10]. Гидрогелевые материалы, как было показано, способствовали структурному укреплению ткани, но не препятствовали ремоделированию миокарда после инфаркта [4, 24]. Контролируемое высвобождение тимозина $\beta 4$ при этом улучшало васкуляризацию поврежденного миокарда [10].

Для создания биопатчей могут быть использованы не только отдельные вещества, но и различные типы клеток, в том числе с возможностью целенаправленной

дифференцировки для осуществления репарации сердечной ткани. Исследователями была произведена стимуляция ПКЭ факторами *Wnt* и *Ra*, что привело к направлению трансформации этих клеток по эпикардиальному пути. Далее под действием факторов *bFGF* и *TGFβ1* они приобрели мезенхимальный фенотип [5, 46].

В исследованиях на крысах была продемонстрирована способность мезенхимальных стволовых клеток в составе биопатчей к секреции компонентов (*HIF1α* — фактор, индуцируемый гипоксией, *Hypoxia-inducible factor 1-alpha*; тимозин $\beta 4$; *VEGF* — фактор роста эндотелия сосудов, *Vascular Endothelial Growth Factor* и *SDF1* — фактор стромальных клеток, *Stromal cell-derived factor 1*), необходимых для активации ПКЭ. Последние мигрируют глубоко в миокард и превращаются в гладкомышечные клетки и, частично, в кардиомиоциты [39]. Подобные опыты проводились и отечественными учеными: разработанные биологические конструкции по типу клеточных пластов транспланировались в область смоделированного инфаркта миокарда у крыс. Конструкции имели хорошую адгезивную и интегративную способности. В экспериментальной группе среднее количество стромальных клеток (192 ± 82 против 43 ± 36) и площадь их распределения в миокарде (191822 ± 21346 мкм^2 против 45117 ± 30812 мкм^2) оказалась значительно больше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Отмечены также положительные результаты в отношении миграционной активности этих клеток в подлежащие слои миокарда (212 ± 39 мкм против 53 ± 34 мкм , $p < 0,05$) [3].

Эпикардиальная аппликация мезенхимальных стромальных клеточных пластов способствует увеличению продукции паракринных факторов, которые необходимы для осуществления ЭМТ (*IGF1* — инсулиноподобный фактор роста 1, *Insulin-Like Growth Factor 1*; *MMP2* — матриксная металлопротеиназа 2, *Matrix Metalloproteinase 2*, *HIF1α*). Мезенхимальные клетки в составе патчей продуцировали *PECAM1* (*Platelet-Endothelial Cell Adhesion Molecule 1* или *CD31* — мембранный белок клеточной адгезии) на третий день после трансплантации. Однако эти клетки не мигрировали в толщу миокарда и не подверглись дифференцировке в кардиомиоциты, что указывает на преимущественно паракринное влияние их медиаторов [33]. Эти наблюдения легли в основу I фазы клинических исследований, направленных на лечение дилатационной кардиомиопатии. Несмотря на то что инфаркт миокарда не являлся первичным повреждением в данном исследовании, описанные клеточные пласти промонстрировали многообещающие данные в виде хорошего профиля безопасности и восстановления функции сердца [18]. Дальнейшие исследования направлены на изучение как возможностей использования мезенхимальных клеточных пластов при остром инфаркте миокарда, так и механизмов их действия.

Еще с 1990-х годов активно использовали в биоинженерии самособирающиеся пептиды — это короткие

синтетические пептиды, обладающие гидрофильными и гидрофобными последовательностями, которые придают им особые молекулярные свойства, обеспечивающие их уникальную способность спонтанно организовываться в упорядоченные структуры. Самособирающиеся пептиды также нашли применение в отношении эпикардиальной репарации. Они демонстрируют хорошую биосовместимость, безопасность и свойства биодеградации (биоразложение), которые имитируют естественный внеклеточный матрикс сердца [21]. Обогащенный самособирающимся пептидом гидрогель создает в миокарде микроокружение, сходное с экстрацеллюлярным матриксом и способствующее васкуляризации [12]. В 2021 г. группа китайских ученых получила данные, что интрамиокардиальная инъекция прикрепленного к такому пептиду тимозина $\beta 4$ активирует эпикард, улучшает репарацию миокарда и поддерживает функцию сердца после инфаркта миокарда. Постоянное равномерное высвобождение тимозина $\beta 4$ способствует дифференцировке ПКЭ как в клетки сердечно-сосудистой системы, так и в лимфатические эндотелиальные клетки. Авторы полагают, что ПКЭ при стимуляции мигрируют в субэпикардиальный слой и миокард, трансформируются в клетки, которые выстилают стенку лимфатических капилляров. Таким образом, инициируется процесс лимфоангиогенеза, необходимый, вероятно, для оттока иммунных клеток и провоспалительных цитокинов от очага некроза, уменьшая выраженность отека, местного воспаления и постинфарктного склероза [40].

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭПИКАРДА

В недавних исследованиях изучалась возможность применения малых молекул для стимуляции эпикардиальной дифференцировки и ЭМТ после инфаркта миокарда у крыс. Низкомолекулярный сигнальный модулятор *Wnt* (ингибитор сигнализации *Wnt ICG-001*) содействует ЭМТ и улучшает систолическую функцию у крыс, перенесших инфаркт [26].

Продемонстрировано, что выращенные эпикардиальные клетки могут быть посажены на биопатчи из внеклеточного матрикса, полученного от кардиальных фибробластов. У мыши с индуцированным инфарктом аппликация таких патчей на поверхность сердца привела к ускорению ЭМТ и значительной дифференцировке клеток в фибробласти и гладкомышечные клетки. Однако эффективное воздействие таких патчей на функцию поврежденного миокарда пока ограничено [6].

Исследование первичных человеческих ПКЭ позволило выявить около 7400 структурно разнообразных соединений, которые ответственны за регуляцию широкого спектра биологических мишеней, среди них выявлены

и молекулы, модифицирующие пролиферацию человеческих ПКЭ. Таким образом, дальнейшее изучение метаболических и фармакокинетических принадлежностей этих микромолекулярных соединений открывает широкие горизонты для исследований *in vivo* [22].

Таким образом, на данный момент существуют следующие способы активации репаративного потенциала эпикарда:

1. Генетическое перепрограммирование клеток с помощью вирусов путем введения в полость перикарда вирусных векторов, которые встраиваются в генетический материал фибробластов и вызывают дифференцировку в различные клетки миокарда.

2. Локальное применение паракринных факторов, участвующих в формировании сердца (факторы транскрипции GATA4 и GATA6; тимозин $\beta 4$ и др.). Имеются данные, что перикардиальная жидкость пациентов с ишемической болезнью сердца стимулировала рост и выживание клеточных структур сердца.

3. Эпикардиальная трансплантация тканеинженерных конструкций, их использование во время проведения аортокоронарного шунтирования у пациентов с тяжелой постинфарктной сердечной недостаточностью продемонстрировала свою эффективность и безопасность, что позволяет расширить применение этого метода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предположение о регенеративном потенциале сердца было оправдано после прицельного изучения свойств и характеристик эпикарда. В процессе эмбриогенеза эпикард продуцирует большое количество мультипотентных прогениторных клеток сердца, которые в дальнейшем подвергаются эпителиально-мезенхимальной трансформации. Эти клетки мигрируют в толщу миокарда и дают начало различным кардиальным типам клеток, в том числе кардиомиоцитам. Эпикард участвует в синтезе паракринных факторов, которые обеспечивают рост коронарных сосудов, а также дифференцировку и развитие миокарда в целом.

В основе разрабатываемых механизмов восстановления миокарда лежат различные способы стимуляции активности эпикарда по эмбриональному пути. Наиболее перспективно применение тканеинженерных конструкций, содержащих прорегенеративные факторы. При этом создается специфическое микроокружение за счет формирования полноценного клеточного пласта, который позволяет поддерживать жизнеспособность клеток и их функциональную активность. Данные пластины содержат ПКЭ и паракринные факторы, позволяющие направлять дифференцировку клеток по определенному пути (кардиомиоциты, эндотелиоциты, гладкомышечные клетки). Имплантация пластов, содержащих комбинации ПКЭ с мультипотентными мезенхимальными стromальными клетками, вызывает наибольший интерес. Эти модели

продемонстрировали свою эффективность и безопасность на уровне доклинических испытаний, что позволит в ближайшем будущем использовать их в клинических исследованиях.

В настоящее время предложены и активно изучаются в России и за рубежом различные методы активации эпикарда и способы доставки биологически активных веществ к месту повреждения. К таким, показавшим свою эффективность, молекулам относится тимозин β 4, трансформирующий фактор роста β ($TGF\beta$), основный фактор роста фибробластов ($bFGF$) и некоторые другие. Использование тканеинженерных конструкций, как, например, биопатчи и гидрогели, обогащенных прогениторными клетками и паракринными факторами, в частности $bFGF$, в экспериментах *in vitro* показало эффективность таких способов доставки. Генетическое перепрограммирование с помощью вирусных векторов и применение малых молекул для стимуляции эпителиально-мезенхимальной трансформации также относятся к перспективным направлениям.

Однако, несмотря на успех описанных экспериментальных моделей, применение указанных методик в реальной клинической практике пока не нашло широкого применения. Единичные сообщения свидетельствуют о высоком потенциале стимуляции эпикарда при лечении больных инфарктом миокарда. В то же время требуются дальнейшие исследования механизмов миграции и дифференцировки эпикардиальных клеток *in vitro*, изучение

не только краткосрочных результатов, но и оценки долгосрочной эффективности и безопасности предложенных подходов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

ADDITIONAL INFO

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дергилев К.В., Комова А.В., Цоколаева З.И., и др. Эпикард как новая мишень для регенеративных технологий в кардиологии // Гены и клетки. 2020. Т. 15, № 2. С. 33–40. EDN: ZWNMPT doi: 10.23868/202004016
2. Дергилев К.В., Цоколаева З.И., Белоглазова И.Б., и др. Интрамиокардиальное введение резидентных c-kit⁺-прогениторных клеток сердца вызывает активацию прогениторных клеток эпикарда и стимулирует васкуляризацию миокарда после инфаркта // Гены и клетки. 2018. Т. 13, № 1. С. 75–81. EDN: YNQDYD doi: 10.23868/201805009
3. Дергилев К.В., Цоколаева З.И., Белоглазова И.Б., и др. Эпикардиальная трансплантация пластов из мезенхимальных стромальных клеток жировой клетчатки способствует активации эпикарда и стимулирует ангиогенез при инфаркте миокарда (экспериментальное исследование) // Общая реаниматология. 2019. Т. 15, № 6. С. 38–49. EDN: YLCBGN doi: 10.15360/1813-9779-2019-6-38-49
4. Сизов А.В., Зотов Д.Д. Инфаркт миокарда второго типа при выраженному аортальном стенозе // Университетский терапевтический вестник. 2022. Т. 4, № 1. С. 32–36. doi: 10.56871/5991.2022.32.45.004
5. Шлойдо Е.А., Пятериченко И.А., Зверева В.В., и др. Эндоваскулярные методы лечения у пациента с сочетанной патологией // Педиатр. 2015. Т. 6, № 3. С. 123–128. EDN: VBUCZP doi: 10.17816/PED63123-128
6. Bao X., Lian X., Hacker T.A., et al. Long-term self-renewing human epicardial cells generated from pluripotent stem cells under defined xeno-free conditions // Nat Biomed Eng. 2016. Vol. 1. ID 0003. doi: 10.1038/s41551-016-0003
7. Cai C.-L., Martin J.C., Sun Y., et al. A myocardial lineage derives from *Tbx18* epicardial cells // Nature. 2008. Vol. 454. P. 104–108. doi: 10.1038/nature06969
8. Cai W., Tan J., Yan J., et al. Limited regeneration potential with minimal epicardial progenitor conversions in the neonatal mouse heart after injury // Cell Rep. 2019. Vol. 28, N 1. P. 190–201.e3. doi: 10.1016/j.celrep.2019.06.003
9. Cao J., Poss K.D. The epicardium as a hub for heart regeneration // Nat Rev Cardiol. 2018. Vol. 15. P. 631–647. doi: 10.1038/s41569-018-0046-4
10. Chiu L.L.Y., Reis L.A., Momen A., Radisic M. Controlled release of thymosin- β 4 from injected collagen-chitosan hydrogels promotes angiogenesis and prevents tissue loss after myocardial infarction // Regen Med. 2012. Vol. 7, N 4. P. 523–533. doi: 10.2217/rme.12.35
11. Christoffels V.M., Grieskamp T., Norden J., et al. *Tbx18* and the fate of epicardial progenitors // Nature. 2009. Vol. 458, N 7240. P. E8–E9. doi: 10.1038/nature07916
12. Davis M.E., Motion J.P., Narmoneva D.A., et al. Injectable self-assembling peptide nanofibers create intramyocardial microenvironments for endothelial cells // Circulation. 2005. Vol. 111, N 4. P. 442–450. doi: 10.1161/01.CIR.0000153847.47301.80
13. Gaetani R., Feyen D.A.M., Verhage V., et al. Epicardial application of cardiac progenitor cells in a 3D-printed gelatin/hyaluronic acid patch

- preserves cardiac function after myocardial infarction // *Biomaterials*. 2015. Vol. 61. P. 339–348. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.05.005
- 14.** Guadix J.A., Orlova V.V., Giacomelli E., et al. Human pluripotent stem cell differentiation into functional epicardial progenitor cells // *Stem Cell Rep.* 2017. Vol. 9, N 6. P. 1754–1764. doi: 10.1016/j.stemcr.2017.10.023
- 15.** Iyer D., Gambardella L., Bernard W.G., et al. Robust derivation of epicardium and its differentiated smooth muscle cell progeny from human pluripotent stem cells // *Development*. 2015. Vol. 142, N 8. P. 1528–1541. doi: 10.1242/dev.119271
- 16.** Kobayashi H., Yu Y., Volk D.E. Chapter 13 — Thymosins. В кн.: Hormonal signaling in biology and medicine / G. Litwack, editor. Academic Press, 2020. P. 311–326. doi: 10.1016/B978-0-12-813814-4.00013-4
- 17.** Mewhort H.E., Turnbull J.D., Meijndert H.C., et al. Epicardial infarct repair with basic fibroblast growth factor-enhanced Cor-Matrix-ECM biomaterial attenuates postischemic cardiac remodeling // *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014. Vol. 147, N 5. P. 1650–1659. doi: 10.1016/j.jtcvs.2013.08.005
- 18.** Miyagawa S., Domae K., Yoshikawa Y., et al. Phase I clinical trial of autologous stem cell-sheet transplantation therapy for treating cardiomyopathy // *J Am Heart Assoc.* 2017. Vol. 6, N 4. ID e003918. doi: 10.1161/JAHA.116.003918
- 19.** Moerkamp A.T., Lodder K., van Herwaarden T., et al. Human fetal and adult epicardial-derived cells: A novel model to study their activation // *Stem Cell Res Ther.* 2016. Vol. 7. ID 174. doi: 10.1186/s13287-016-0434-9
- 20.** Olivey H.E., Svensson E.C. Epicardial-myocardial signaling directing coronary vasculogenesis // *Circ Res.* 2010. Vol. 106, N 5. P. 818–832. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.209197
- 21.** Pascual-Gil S., Garbayo E., Díaz-Herráez P., et al. Heart regeneration after myocardial infarction using synthetic biomaterials // *J Control Release.* 2015. Vol. 203. P. 23–38. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.02.009
- 22.** Paunovic A.I., Drowley L., Nordqvist A., et al. Phenotypic screen for cardiac regeneration identifies molecules with differential activity in human epicardium-derived cells versus cardiac fibroblasts // *ACS Chem Biol.* 2017. Vol. 12, N 1. P. 132–141. doi: 10.1021/acschembio.6b00683
- 23.** Porrello E.R., Mahmoud A.I., Simpson E., et al. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart // *Science*. 2011. Vol. 331, N 6020. P. 1078–1080. doi: 10.1126/science.1200708
- 24.** Rane A.A., Chuang J.S., Shah A., et al. Increased infarct wall thickness by a bio-inert material is insufficient to prevent negative left ventricular remodeling after myocardial infarction // *PLoS One*. 2011. Vol. 6. ID e21571. doi: 10.1371/journal.pone.0021571
- 25.** Sanchez-Fernandez C., Rodriguez-Outeiriño L., Matias-Valiente L., et al. Regulation of epicardial cell fate during cardiac development and disease: An overview // *Int J Mol Sci.* 2022. Vol. 23, N 6. ID 3220. doi: 10.3390/ijms23063220
- 26.** Sasaki T., Hwang H., Nguyen C., et al. The small molecule Wnt signaling modulator ICG-001 improves contractile function in chronically infarcted rat myocardium // *PLoS One*. 2013. Vol. 8. ID e75010. doi: 10.1371/journal.pone.0075010
- 27.** Serpooshan V., Zhao M., Metzler S.A., et al. The effect of bioengineered acellular collagen patch on cardiac remodeling and ventricular function post myocardial infarction // *Biomaterials*. 2013. Vol. 34, N 36. P. 9048–9055. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.08.017
- 28.** Srivastava S., Srivastava D., Olson E.N., et al. Thymosin β 4 and cardiac repair // *Ann NY Acad Sci.* 2010. Vol. 1194, N 1. P. 87–96. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05468.x
- 29.** Smart N., Risebro C.A., Melville A.A.D., et al. Thymosin β 4 induces adult epicardial progenitor mobilization and neovascularization // *Nature*. 2007. Vol. 445. P. 177–182. doi: 10.1038/nature05383
- 30.** Smits A., Riley P. Epicardium-derived heart repair // *J Dev Biol.* 2014. Vol. 2, N 2. P. 84–100. doi: 10.3390/jdb2020084
- 31.** Smits A.M., Dronkers E., Goumans M.-J. The epicardium as a source of multipotent adult cardiac progenitor cells: Their origin, role and fate // *Pharmacol Res.* 2018. Vol. 127. P. 129–140. doi: 10.1016/j.phrs.2017.07.020
- 32.** Tan S.H., Loo S.J., Gao Y., et al. Thymosin β 4 increases cardiac cell proliferation, cell engraftment, and the reparative potency of human induced-pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in a porcine model of acute myocardial infarction // *Theranostics*. 2021. Vol. 11, N 16. P. 7879–7895. doi: 10.7150/thno.56757
- 33.** Tano N., Narita T., Kaneko M., et al. Epicardial placement of mesenchymal stromal cell-sheets for the treatment of ischemic cardiomyopathy; *in vivo* proof-of-concept study // *Mol Ther.* 2014. Vol. 22, N 10. P. 1864–1871. doi: 10.1038/mt.2014.110
- 34.** Trembley M.A., Velasquez L.S., Bentley K.L.D.M., Small E.M. Myocardin-related transcription factors control the motility of epicardium-derived cells and the maturation of coronary vessels // *Development*. 2015. Vol. 142, N 1. P. 21–30. doi: 10.1242/dev.116418
- 35.** Van Tuyn J., Atsma D.E., Winter E.M., et al. Epicardial cells of human adults can undergo an epithelial-to-mesenchymal transition and obtain characteristics of smooth muscle cells *in vitro* // *Stem Cells*. 2007. Vol. 25, N 2. P. 271–278. doi: 10.1634/stemcells.2006-0366
- 36.** Van Wijk B., Gunst Q.D., Moorman A.F.M., Van Den Hoff M.J.B. Cardiac regeneration from activated epicardium // *PLoS One*. 2012. Vol. 7. ID e44692. doi: 10.1371/journal.pone.0044692
- 37.** Vieira J.M., Howard S., Villa Del Campo C., et al. BRG1-SWI/SNF-dependent regulation of the *Wt1* transcriptional landscape mediates epicardial activity during heart development and disease // *Nat Commun.* 2017. Vol. 8. ID 16034. doi: 10.1038/ncomms16034
- 38.** Von Gise A., Pu W.T. Endocardial and epicardial epithelial to mesenchymal transitions in heart development and disease // *Circ Res.* 2012. Vol. 110, N 12. P. 1628–1645. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.259960
- 39.** Wang Q.L., Wang H.-J., Li Z.-H., et al. Mesenchymal stem cell-loaded cardiac patch promotes epicardial activation and repair of the infarcted myocardium // *J Cell Mol Med.* 2017. Vol. 21, N 9. P. 1751–1766. doi: 10.1111/jcmm.13097
- 40.** Wang Y.-L., Yu S.-N., Shen H.-R., et al. Thymosin β 4 released from functionalized self-assembling peptide activates epicardium and enhances repair of infarcted myocardium // *Theranostics*. 2021. Vol. 11, N 9. P. 4262–4280. doi: 10.7150/thno.52309
- 41.** Wei K., Serpooshan V., Hurtado C., et al. Epicardial FSTL1 reconstitution regenerates the adult mammalian heart // *Nature*. 2015. Vol. 525. P. 479–485. doi: 10.1038/nature15372
- 42.** Wessels A., Pérez-Pomares J.M. The epicardium and epicardially derived cells (EPDCs) as cardiac stem cells // *Anat Rec Part A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2004. Vol. 276A, N 1. P. 43–57. doi: 10.1002/ar.a.10129
- 43.** Winter E.M., Grauss R.W., Hogers B., et al. Preservation of left ventricular function and attenuation of remodeling after transplantation of human epicardium-derived cells into the infarcted mouse heart // *Circulation*. 2007. Vol. 116, N 8. P. 917–927. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.668178

- 44.** Witty A.D., Mihic A., Tam R.Y., et al. Generation of the epicardial lineage from human pluripotent stem cells // *Nat Biotechnol.* 2014. Vol. 32. P. 1026–1035. doi: 10.1038/nbt.3002
- 45.** Yamaguchi Y., Cavallero S., Patterson M., et al. Adipogenesis and epicardial adipose tissue: a novel fate of the epicardium induced by mesenchymal transformation and PPARgamma activation // *PNAS USA.* 2015. Vol. 112, N 7. P. 2070–2075. doi: 10.1073/pnas.1417232112
- 46.** Zhao J., Cao H., Tian L., et al. Efficient differentiation of TBX18⁺/WT1⁺ epicardial-like cells from human pluripotent stem cells using small molecular compounds // *Stem Cells Dev.* 2017. Vol. 26, N 7. P. 528–540. doi: 10.1089/scd.2016.0208
- 47.** Zhou B., Ma Q., Rajagopal S., et al. Epicardial progenitors contribute to the cardiomyocyte lineage in the developing heart // *Nature.* 2008. Vol. 454, N 7200. P. 109–913. doi: 10.1038/nature07060
- 48.** Zhou B., McGowan F.X., Pu W.T., et al. Adult mouse epicardium modulates myocardial injury by secreting paracrine factors // *J Clin Investig.* 2011. Vol. 121, N 5. P. 1894–1904. doi: 10.1172/JCI45529

REFERENCES

1. Dergilev KV, Komova AV, Tsokolaeva ZI, et al. Epicardium as a new target for regenerative technologies in cardiology. *Genes and Cells.* 2020;15(2):33–40. EDN: ZWNMPT doi: 10.23868/202004016
2. Dergilev KV, Tsokolaeva ZI, Beloglazova IB, et al. Intramycocardial administration of resident c-kit⁺ cardiac progenitor cells activates epicardial progenitor cells and promotes myocardial vascularization after the infarction. *Genes and Cells.* 2018;13(1):75–81. EDN: YNQDYD doi: 10.23868/201805009
3. Dergilev KV, Tsokolaeva ZI, Beloglazova IB, et al. Epicardial transplantation of adipose mesenchymal stromal cell sheets promotes epicardial activation and stimulates angiogenesis in myocardial infarction (experimental study). *General Reumatology.* 2019;15(6):38–49. EDN: YLCBGN doi: 10.15360/1813-9779-2019-6-38-49
4. Sizov AV, Zotov DD. Myocardial infarction of the second type with severe aortic stenosis. *University Therapeutic Journal.* 2022;4(1):32–36. doi: 10.56871/5991.2022.32.45.004
5. Shloyd EA, Pyaterichenko IA, Zvereva VV, et al. Endovascular treatment in patients with combined pathology. *Pediatrician (St. Petersburg).* 2015;6(3):123–128. EDN: VBUCZP doi: 10.17816/PED63123-128
6. Bao X, Lian X, Hacker TA, et al. Long-term self-renewing human epicardial cells generated from pluripotent stem cells under defined xeno-free conditions. *Nat Biomed Eng.* 2016;1:0003. doi: 10.1038/s41551-016-0003
7. Cai C-L, Martin JC, Sun Y, et al. A myocardial lineage derives from *Tbx18* epicardial cells. *Nature.* 2008;454:104–108. doi: 10.1038/nature06969
8. Cai W, Tan J, Yan J, et al. Limited regeneration potential with minimal epicardial progenitor conversions in the neonatal mouse heart after injury. *Cell Rep.* 2019;28(1):190–201.e3. doi: 10.1016/j.celrep.2019.06.003
9. Cao J, Poss KD. The epicardium as a hub for heart regeneration. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15:631–647. doi: 10.1038/s41569-018-0046-4
10. Chiu LLY, Reis LA, Momen A, Radisic M. Controlled release of thymosin-β4 from injected collagen-chitosan hydrogels promotes angiogenesis and prevents tissue loss after myocardial infarction. *Regen Med.* 2012;7(4):523–533. doi: 10.2217/rme.12.35
11. Christoffels VM, Grieskamp T, Norden J, et al. *Tbx18* and the fate of epicardial progenitors. *Nature.* 2009;458(7240):E8–E9. doi: 10.1038/nature07916
12. Davis ME, Motion JP, Narmoneva DA, et al. Injectable self-assembling peptide nanofibers create intramyocardial microenvironments for endothelial cells. *Circulation.* 2005;111(4):442–450. doi: 10.1161/CIR.0000153847.47301.80
13. Gaetani R, Feyen DAM, Verhage V, et al. Epicardial application of cardiac progenitor cells in a 3D-printed gelatin/hyaluronic acid patch preserves cardiac function after myocardial infarction. *Biomaterials.* 2015;61:339–348. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.05.005
14. Guadix JA, Orlova VV, Giacomelli E, et al. Human pluripotent stem cell differentiation into functional epicardial progenitor cells. *Stem Cell Rep.* 2017;9(6):1754–1764. doi: 10.1016/j.stemcr.2017.10.023
15. Iyer D, Gambardella L, Bernard WG, et al. Robust derivation of epicardium and its differentiated smooth muscle cell progeny from human pluripotent stem cells. *Development.* 2015;142(8):1528–1541. doi: 10.1242/dev.119271
16. Kobayashi H, Yu Y, Volk DE. Chapter 13 — Thymosins. In: Litwack G, editor. *Hormonal signaling in biology and medicine.* Academic Press; 2020. P. 311–326. doi: 10.1016/B978-0-12-813814-4.00013-4
17. Mewhort HE, Turnbull JD, Meijndert HC, et al. Epicardial infarct repair with basic fibroblast growth factor-enhanced CorMatrix-ECM biomaterial attenuates postischemic cardiac remodeling. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;147(5):1650–1659. doi: 10.1016/j.jtcvs.2013.08.005
18. Miyagawa S, Domae K, Yoshikawa Y, et al. Phase I clinical trial of autologous stem cell-sheet transplantation therapy for treating cardiomyopathy. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(4):e003918. doi: 10.1161/JAHA.116.003918
19. Moerkamp AT, Lodder K, van Herwaarden T, et al. Human fetal and adult epicardial-derived cells: A novel model to study their activation. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7:174. doi: 10.1186/s13287-016-0434-9
20. Olivey HE, Svensson EC. Epicardial-myocardial signaling directing coronary vasculogenesis. *Circ Res.* 2010;106(5):818–832. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.209197
21. Pascual-Gil S, Garbayo E, Díaz-Herráez P, et al. Heart regeneration after myocardial infarction using synthetic biomaterials. *J Control Release.* 2015;203:23–38. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.02.009
22. Paunovic AI, Drowley L, Nordqvist A, et al. Phenotypic screen for cardiac regeneration identifies molecules with differential activity in human epicardium-derived cells versus cardiac fibroblasts. *ACS Chem Biol.* 2017;12(1):132–141. doi: 10.1021/acscchembio.6b00683
23. Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, et al. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science.* 2011;331(6020):1078–1080. doi: 10.1126/science.1200708
24. Rane AA, Chuang JS, Shah A, et al. Increased infarct wall thickness by a bio-inert material is insufficient to prevent negative left ventricular remodeling after myocardial infarction. *PLoS One.* 2011;6: e21571. doi: 10.1371/journal.pone.0021571
25. Sanchez-Fernandez C, Rodriguez-Outeiriño L, Matias-Valiente L, et al. Regulation of epicardial cell fate during cardiac development and disease: An overview. *Int J Mol Sci.* 2022;23(6):3220. doi: 10.3390/ijms23063220

- 26.** Sasaki T, Hwang H, Nguyen C, et al. The small molecule Wnt signaling modulator ICG-001 improves contractile function in chronically infarcted rat myocardium. *PLoS One*. 2013;8:e75010. doi: 10.1371/journal.pone.0075010
- 27.** Serpooshan V, Zhao M, Metzler SA, et al. The effect of bioengineered acellular collagen patch on cardiac remodeling and ventricular function post myocardial infarction. *Biomaterials*. 2013;34(36): 9048–9055. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.08.017
- 28.** Shrivastava S, Srivastava D, Olson EN, et al. Thymosin β 4 and cardiac repair. *Ann NY Acad Sci*. 2010;1194(1):87–96. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05468.x
- 29.** Smart N, Risebro CA, Melville AAD, et al. Thymosin β 4 induces adult epicardial progenitor mobilization and neovascularization. *Nature*. 2007;445:177–182. doi: 10.1038/nature05383
- 30.** Smits A, Riley P. Epicardium-derived heart repair. *J Dev Biol*. 2014;2(2):84–100. doi:10.3390/jdb2020084
- 31.** Smits AM, Dronkers E, Goumans M-J. The epicardium as a source of multipotent adult cardiac progenitor cells: Their origin, role and fate. *Pharmacol Res*. 2018;127:129–140. doi: 10.1016/j.phrs.2017.07.020
- 32.** Tan SH, Loo SJ, Gao Y, et al. Thymosin β 4 increases cardiac cell proliferation, cell engraftment, and the reparative potency of human induced-pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in a porcine model of acute myocardial infarction. *Theranostics*. 2021;11(16):7879–7895. doi: 10.7150/thno.56757
- 33.** Tano N, Narita T, Kaneko M, et al. Epicardial placement of mesenchymal stromal cell-sheets for the treatment of ischemic cardiomyopathy: *in vivo* proof-of-concept study. *Mol Ther*. 2014;22(10): 1864–1871. doi: 10.1038/mt.2014.110
- 34.** Trembley MA, Velasquez LS, Bentley KLD, Small EM. Myocardin-related transcription factors control the motility of epicardium-derived cells and the maturation of coronary vessels. *Development*. 2015;142(1):21–30. doi: 10.1242/dev.116418
- 35.** Van Tuyn J, Atsma DE, Winter EM, et al. Epicardial cells of human adults can undergo an epithelial-to-mesenchymal transition and obtain characteristics of smooth muscle cells *in vitro*. *Stem Cells*. 2007;25(2):271–278. doi: 10.1634/stemcells.2006-0366
- 36.** Van Wijk B, Gunst QD, Moorman AFM, Van Den Hoff MJB. Cardiac regeneration from activated epicardium. *PLoS One*. 2012;7:e44692. doi: 10.1371/journal.pone.0044692
- 37.** Vieira JM, Howard S, Villa Del Campo C, et al. BRG1-SWI/ SNF-dependent regulation of the *Wt1* transcriptional landscape mediates epicardial activity during heart development and disease. *Nat Commun*. 2017;8:16034. doi: 10.1038/ncomms16034
- 38.** Von Gise A, Pu WT. Endocardial and epicardial epithelial to mesenchymal transitions in heart development and disease. *Circ Res*. 2012;110(12):1628–1645. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.259960
- 39.** Wang QL, Wang H-J, Li Z-H, et al. Mesenchymal stem cell-loaded cardiac patch promotes epicardial activation and repair of the infarcted myocardium. *J Cell Mol Med*. 2017;21(9):1751–1766. doi: 10.1111/jcmm.13097
- 40.** Wang Y-L, Yu S-N, Shen H-R, et al. Thymosin β 4 released from functionalized self-assembling peptide activates epicardium and enhances repair of infarcted myocardium. *Theranostics*. 2021;11(9):4262–4280. doi: 10.7150/thno.52309
- 41.** Wei K, Serpooshan V, Hurtado C, et al. Epicardial FSTL1 reconstitution regenerates the adult mammalian heart. *Nature*. 2015;525:479–485. doi: 10.1038/nature15372
- 42.** Wessels A, Pérez-Pomares JM. The epicardium and epicardially derived cells (EPDCs) as cardiac stem cells. *Anat Rec Part A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2004;276A(1):43–57. doi: 10.1002/ar.a.10129
- 43.** Winter EM, Grauss RW, Hogers B, et al. Preservation of left ventricular function and attenuation of remodeling after transplantation of human epicardium-derived cells into the infarcted mouse heart. *Circulation*. 2007;116(8):917–927. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.668178
- 44.** Witty AD, Mihic A, Tam RY, et al. Generation of the epicardial lineage from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2014;32:1026–1035. doi: 10.1038/nbt.3002
- 45.** Yamaguchi Y, Cavallero S, Patterson M, et al. Adipogenesis and epicardial adipose tissue: a novel fate of the epicardium induced by mesenchymal transformation and PPARgamma activation. *PNAS USA*. 2015;112(7):2070–2075. doi: 10.1073/pnas.1417232112
- 46.** Zhao J, Cao H, Tian L, et al. Efficient differentiation of TBX18 $^+$ /WT1 $^+$ epicardial-like cells from human pluripotent stem cells using small molecular compounds. *Stem Cells Dev*. 2017;26(7):528–540. doi: 10.1089/scd.2016.0208
- 47.** Zhou B, Ma Q, Rajagopal S, et al. Epicardial progenitors contribute to the cardiomyocyte lineage in the developing heart. *Nature*. 2008;454(7200):109–113. doi: 10.1038/nature07060
- 48.** Zhou B, McGowan FX, Pu WT, et al. Adult mouse epicardium modulates myocardial injury by secreting paracrine factors. *J Clin Investig*. 2011;121(5):1894–1904. doi: 10.1172/JCI45529

ОБ АВТОРАХ

***Евгений Владимирович Тимофеев**, д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; адрес: Россия, 192100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2; ORCID: 0000-0001-9607-4028; eLibrary SPIN: 1979-7713; e-mail: darrieux@mail.ru

Яна Эдуардовна Булавко, ассистент, кафедра пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия; ORCID: 0000-0003-0879-846X; eLibrary SPIN: 8159-2273; e-mail: yana.bulavko@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

***Eugene V. Timofeev**, MD, PhD, Dr. Sci. (Medicine), Professor, Department of Propaedeutics Internal Medicine, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation; address: 2 Litovskaya st., Saint Petersburg, 194100, Russia; ORCID: 0000-0001-9607-4028; eLibrary SPIN: 1979-7713; e-mail: darrieux@mail.ru

Yana E. Bulavko, Assistant Professor, Department of Propaedeutics Internal Medicine, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia; ORCID: 0000-0003-0879-846X; eLibrary SPIN: 8159-2273; e-mail: yana.bulavko@mail.ru