

ПРЕПОДАВАНИЕ УЧЕНИЯ О СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ НА КАФЕДРЕ ГИСТОЛОГИИ, ЦИТОЛОГИИ И ЭМБРИОЛОГИИ

МЯДЕЛЕЦ О.Д.¹, ЛЕБЕДЕВА Е.И.¹, МЯДЕЛЕЦ Н.Я.²

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

²Витебский государственный медицинский колледж, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №6. – С. 114-124.

TEACHING OF STEM CELLS THEORY AT THE CHAIR OF HISTOLOGY, CYTOLOGY AND EMBRYOLOGY

MYADELETS O.D.¹, LEBEDEVA E.I.¹, MYADELETS N.Y.²

¹Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Vitebsk State Medical College, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(6):114-124.

Резюме.

В статье обсуждается проблема преподавания учения о стволовых клетках организма. Проблема возникла в связи с тем, что за последнее время это учение обогатилось совершенно новыми и ошеломляющими данными о происхождении, строении, дифференцировке, трансдифференцировке, классификациях стволовых клеток (СК), их свойствах. Появились такие новые понятия и термины, как «ниши стволовых клеток», их «трансдифференцировка», «мобилизация» и «хоминг стволовых клеток» и др. Однако авторы учебников и учебных пособий пока с осторожностью относятся к тем новациям, посвященным стволовым клеткам, которые установлены, изучены и освещены в многочисленных научных изданиях и не спешат их освещать в учебной литературе. В связи с этим в настоящей статье изложены методические подходы к внедрению новых сведений о свойствах эмбриональных (ЭСК), фетальных (ФСК), «взрослых» региональных стволовых клеток (ВРСК) в учебный процесс кафедр гистологии, цитологии и эмбриологии, которым напрямую вменено в обязанность доносить до студентов сведения о такой разновидности клеток, как стволовые. Эти сведения достаточно успешно внедряются и будут внедряться в дальнейшем на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии Витебского государственного медицинского университета. В статье излагаются методические приемы, используемые сотрудниками кафедры по такому внедрению. Достаточно подробно освещены литературные сведения по вопросам, которые касаются свойств, строения, дифференцировки и трансдифференцировки, их ниш, регуляции этих клеток. Обсуждаются также возможности использования СК в клинической практике. Значительный объем статьи посвящен региональным стволовым клеткам взрослых индивидуумов, расположенным в различных тканях.

Ключевые слова: учение о стволовых клетках организма (СК), преподавание на кафедре гистологии.

Abstract.

The article discusses the problem of teaching the theory of stem cells of the body. The problem arose in connection with the fact that recently this teaching was enriched with completely new and stunning data on the origin, structure, differentiation, transdifferentiation, stem cell classifications, stem cell properties (SC) and their classification. Such new concepts and terms as «stem cell niches», their «transdifferentiation», «mobilization», «homing of stem cells», and some others appeared. However, the authors of textbooks and manuals are still cautious about the innovations devoted to stem cells which have been determined, studied and described in numerous scientific publications and do not hasten to include this information in educational literature. In this connection, the present article outlines methodological approaches to the introduction of new data on the properties of embryonic (ESC), fetal (FSC), «adult» regional stem cells (ARSC) in the educational process at the chairs of histology, cytology and embryology, which are directly imposed as a duty to inform the students about such a variety of cells as stem cells. This information is rather successfully introduced and will be

implemented in the future at the Chair of Histology, Cytology & Embryology of the Vitebsk State Medical University. The article also presents the methodological techniques used by the staff of the chair for such implementation. Literature data on the issues relating to differentiation and transdifferentiation, the structure and properties of SC and their niches, and the regulation of these cells are described in sufficient detail. The possibilities of using SC in clinical practice are also discussed. A significant part of the article is devoted to the regional stem cells located in different body tissues of adult individuals.

Key words: the study of the stem cells of the body (SC), teaching at the chair of histology.

Последние десятилетия характеризуются бурным развитием учения о стволовых клетках. Интерес к данной проблеме необычайно велик. Это подтверждается огромным количеством публикаций, которое с каждым годом неуклонно растет. Результаты многочисленных научных исследований ошеломляют, они буквально перечеркивают устоявшиеся представления о клетках, о структурно-функциональных свойствах и регенераторных потенциях тканей и органов организма человека и животных. Эти сведения получены благодаря крупным достижениям молекулярной и клеточной биологии, на основе которых разработаны совершенно новые подходы к изучению клеток, в том числе и стволовых клеток (СК). Появились современные методы выделения и длительного культивирования СК. Это позволило получить принципиально новые сведения о свойствах этих клеток. Особенно важным является то обстоятельство, что некоторые из этих открытий уже успешно внедрены или готовятся к внедрению в различные отрасли практической медицины и помогают спасать, продлевать и существенно улучшать качество диагностических и лечебных мероприятий и жизни людей. Однако вполне правомочно предполагать, что впереди человечество ожидают еще более поразительные открытия и изобретения – создание искусственных органов. Как справедливо отмечают Н.И. Мезен и соавт. [1], «последние достижения современной биологии и генной инженерии готовят мировую науку врачевания к величайшему прорыву в истории: посредством пересадки стволовых клеток излечивать тяжелейшие недуги».

В учении о стволовых клетках выдающуюся роль сыграл известный русский ученый, член-корреспондент АН России, начальник кафедры гистологии и эмбриологии Ленинградской военно-медицинской академии, профессор Максимов А.А. Он не только экспериментально обосновал основной постулат унитарной теории кроветворения, согласно которому все клетки крови об-

разуются из единой предшественницы в зависимости от конкретного микроокружения, но и описал морфологию и некоторые свойства гемопоэтической стволовой клетки (ГСК), предположив, что она похожа на малый лимфоцит и назвав эту клетку мезенхимной. Им же были определены дальнейшие этапы дифференцировки этой клетки: мезенхимная стволовая клетка > большой лимфоцит > малый лимфоцит > полибласт.

Принципиально важным выводом для развития унитарной теории кроветворения, сделанным А.А. Максимовым, явилось выделение четырех классов кроветворных клеток: 1) клетки с неограниченной потенцией к дифференцировке; 2) клетки с частично ограниченной потенцией развития; 3) клетки со строго ограниченной потенцией дифференцировки; 4) полностью дифференцированные клетки, завершающие суицидальный путь развития. Это разделение достаточно точно соответствует классам современной схемы кроветворения, установленным на основе сверхточных современных доказательных методов исследования [2].

Однако несмотря на выдающиеся достижения в развитии учения о стволовых клетках и клеточных технологий, в отечественной учебной литературе по цитологии, гистологии и эмбриологии практически отсутствуют сведения, в которых я излагались бы эти достижения. Они отсутствуют, например, в таких фундаментальных российских изданиях учебной литературы последних лет, как «Гистология, цитология и эмбриология» (авторский коллектив под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной, Е.Ф. Котовского, 2012, 2016 [3]), «Гистология, цитология и эмбриология» (авторы – С.Л. Кузнецов, Н.Н. Мушкамбаров [4]). Однако следует отметить как положительный факт, что в прекрасном переводном учебном пособии «Гистология. Учебное пособие. Атлас» (авторы – Л.К. Жункейра, Ж. Карнейро, 2009 [5]) на стр. 280 в главе 13 «Кроветворение» имеется хотя и небольшой, но важный подраздел «Медицинское

значение», который называется «Костный мозг как источник стволовых клеток для других тканей». В этом подразделе указывается буквально следующее: «...красный костный мозг обладает огромным потенциалом дифференцировки и содержит стволовые клетки, которые могут дифференцироваться в любые другие клетки организма. Поэтому если у человека выделить костномозговые стволовые клетки, а затем культивировать их в специальной среде, позволяющей этим клеткам дифференцироваться в направлении определенного клеточного типа организма, то эти клетки можно использовать для замещения ими клеток, количество которых у того же индивидуума существенно уменьшилось в результате массивной гибели». В этой же книге на стр. 545 к описанному выше подразделу приводится также примечание редактора, профессора, академика РАЕН В.Л. Быкова, в котором он упоминает, что такое свойство гемопоэтических стволовых клеток называется пластичностью. Это свойство является одним из наиболее интересных и важных фактов, изученных в последние годы в области гематологии.

Разумеется, учебная литература отличалась и до сих пор отличается в определенной степени консервативностью, которую можно оправдать: новые научные данные должны быть тщательно и многократно проверены и подтверждены, прежде чем быть включенными в учебную литературу. Однако они до сравнительно недавнего времени отсутствовали и в литературе, которую никак не отнесешь к учебной. Имеются в виду Международные цитологическая, гистологическая и эмбриологическая номенклатуры. Лишь в последних их изданиях стали появляться термины, относящиеся к стволовым клеткам. Так, в издании «Terminologia Histologica» (2009) [6], содержащем международные термины по цитологии и гистологии, уже появились такие термины, как «клетка-основатель», «престволовая клетка», «стволовая клетка», «прогениторная клетка», «эмбриональная стволовая клетка, ЭСК», «ЭСК, возникающая спонтанно *in vivo*, или истинная стволовая клетка», «искусственная индуцированная клетка», «стволовая клетка плода», «стволовая клетка новорожденного», «стволовая клетка взрослого». Приведены также названия отдельных региональных стволовых клеток (корнеальная стволовая клетка роговицы глаза, эндотелиальная стволовая клетка, эпидермальная стволовая клетка) и др.

В издании «Terminologia Embryologica», содержащем международные термины по эмбриологии (2014) [7], также приведено несколько терминов, относящихся к стволовым клеткам различного уровня.

В настоящей и последующих статьях излагаются сведения о возможностях использования достижений в изучении стволовых клеток организма человека в учебном процессе на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии и, в частности, об использовании их в учебной работе кафедры Витебского государственного ордена Дружбы медицинского университета.

В лекционном курсе и на лабораторных занятиях кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Витебского государственного ордена Дружбы медицинского университета вопросы, посвященные стволовым клеткам, поднимаются неоднократно. В весеннем семестре им посвящена отдельная лекция, которая так и называется: «Основы учения о стволовых клетках». Кроме того, в лекциях по отдельным тканям и органам также рассматриваются вопросы наличия и локализации в этих тканях и органах стволовых клеток, даются сведения об их свойствах, значении в регенераторном процессе ткани или органа. Таким образом, формируется определенная система последовательного циклового изложения новых положений учения о стволовых клетках в курсе гистологии, цитологии и эмбриологии. Далее основные принципы этой системы будут рассмотрены более подробно и с привлечением результатов современных научных исследований по данному вопросу.

В лекции по цитологии «Основы учения о стволовых клетках», которая является вводной лекцией этого своеобразного лекционного цикла, освещаются следующие вопросы.

1. Введение. Значение учения о стволовых клетках для современной медицины.
2. Роль А.А. Максимова в создании основ учения о стволовых клетках.
3. Свойства стволовых клеток.
4. Классификации стволовых клеток.
5. Понятие о пластичности стволовых клеток и их трансдифференцировке.
6. Ниши стволовых клеток.
7. Регуляция дифференцировки и трансдифференцировки стволовых клеток. Перепрограммирование стволовых клеток. Использование их в клинике.
8. Региональные стволовые клетки взрос-

лого человека.

Во введении на лекции студентам сообщаются некоторые общие данные о стволовых клетках, о том, что текущее тысячелетие характеризуется бурным развитием учения о стволовых клетках. При этом указывается, что многие разработки уже стали достаточно широко использоваться в практической медицине: развитие регенеративной медицины, создание банков стволовых клеток, трансплантация стволовых клеток с лечебной и диагностической целью, использование их при изучении механизмов действия лекарственных препаратов, токсичности этих препаратов и др. В частности, репаративная медицина предусматривает восстановление нарушенных функций органа или всего организма путем стимуляции внутренних возможностей организма с использованием клеточных технологий и стволовых клеток. С помощью этих технологий в будущем будет возможным создать универсальные донорские культуры стволовых клеток. Поскольку из клеток этих культур будут удалены гены, отвечающие за совместимость тканей, такие культуры можно будет трансплантировать любому пациенту. В настоящее время регенеративная медицина стала самостоятельной интенсивно развивающейся врачебной дисциплиной. В рамках этой дисциплины сделаны достаточно крупные достижения и открытия: лечение болезней печени с помощью мезенхимальных стволовых клеток, создание искусственной кожи для лечения распространенных ожогов, лечение сахарного диабета, заболеваний сердца и др. Многие разработки регенеративной медицины ждут своего клинического применения. Большое значение для технологии стволовых клеток является создание их банка. Его задачами является заготовка пуповинной крови, выделение СК, исследование их и подготовка к хранению, а затем длительное хранение в условиях глубокого замораживания в жидком азоте при -196°C . Как считают Н.И. Мезен и соавт. [1], стволовые клетки пуповинной крови и современные клеточные технологии «...являются естественной формой биологического медицинского страхования жизни и здоровья человека и членов его семьи». Многие новые научные данные о стволовых клетках позволяют более успешно осуществлять гемотрансфузионные методы лечения пациентов.

Далее студентам сообщаются некоторые факты из жизни А.А. Максимова, профессора, члена-корреспондента академии наук России, на-

чальника кафедры гистологии и эмбриологии военно-медицинской академии, основоположника унитарной теории кроветворения. К сожалению, в учебной литературе содержатся лишь скудные сведения об этом удивительном человеке и ученом. Они изложены в специальной статье [2], к которой студенты отсылаются.

В основной части лекции обязательно упоминается о том, что все клетки организма подразделяются на две категории: дифференцированные и недифференцированные, или стволовые клетки, т.е. клетки, способные к размножению и в последующем превращению в дифференцированные клетки, причем эта способность может реализоваться в нескольких направлениях. По сравнению с дифференцированными клетками, число которых огромно, стволовые клетки относительно немногочисленны. Так, число гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге составляет примерно 1:10 000-15 000, тогда как в периферической крови – всего 1:100000 клеток. Говорится о том, что ранее считалось, что дифференцированные клетки не могут вернуться в свое недифференцированное состояние, за исключением Т- и В- лимфоцитов во время бласттрансформации при иммунном ответе на антиген. Однако новые научные результаты свидетельствуют о возможности так называемой трансдифференцировки, которая по сути своей является клеточной дедифференцировкой.

Классификации стволовых клеток

Далее приводятся основные классификации СК.

А. Вейгерс и И. Вейсман (2004) предложили классифицировать все СК по способности формировать клеточные линии на тотипотентные, плюрипотентные, мультипотентные, олигопотентные и унипотентные. К тотипотентным СК относятся клетки, способные дифференцироваться во все клетки организма и в клетки внезародышевого органа плаценты. Эти клетки можно получить только из зародыша на стадии морулы, или бластоцисты. Плюрипотентные клетки при своей дивергентной дифференцировке способны давать все клетки тела зародыша и плода, а также части провизорных органов. К ним относятся клетки эмбриобласта, а в последующем эпибласта. Мультипотентные стволовые клетки дают начало группе клеточных линий. У олигопотентных клеток число этих линий более ограничено,

чем у мультипотентных СК, а унипотентные СК дифференцируются только в одну разновидность клеток.

Согласно классификации, предложенной М.С. Рао (2004), выделяют следующие разновидности СК: эмбриональные, фетальные, СК взрослых индивидуумов и СК, специфические для разных тканей. Упрощенным, но наиболее часто употребляемым вариантом этой классификации является разделение СК на эмбриональные, зародышевые и соматические [8].

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК)

ЭСК подразделяются на 1) тотипотентные, получаемые на стадии морулы, или бластоцисты, до имплантации. Они могут превращаться во все клетки тела зародыша и провизорных органов; 2) клетки эмбриональных карцином; 3) первичные половые клетки зародыша. В отношении дифференцировочных потенций эмбриональных стволовых клеток существуют разногласия. В одних литературных источниках указывается, что они являются плюрипотентными [8, 9], а в других – что эти клетки следует считать тотипотентными, поскольку они способны формировать не только все ткани зародыша, но и ткани внезародышевых органов [10, 11]. Эти клетки получают из эмбриобласта (внутренней клеточной массы бластоцисты). Они длительное время сохраняют пролиферативный потенциал и способность при определенных условиях поддерживать свое недифференцированное состояние. Этим условием является помещение их на так называемый фидерный слой клеток (англ. feed – кормление). Данный слой необходим для обогащения среды, удаления продуктов метаболизма и, главное, для продукции факторов роста. Таким слоем являются первичные эмбриональные фибробласты, которые продуцируют фактор роста фибробластов. Важным свойством эмбриональных стволовых клеток является отсутствие у них антигенов гистосовместимости, т.е. они не вызывают реакции отторжения. Эмбриональные стволовые клетки имеют характерное строение: узкий ободок цитоплазмы с небольшим количеством органелл, крупное светлое ядро, содержащее преимущественно эухроматин и несколько ядрышек. Соответственно этому для клеток характерно высокое ядерно-цитоплазматическое отношение. ЭСК обладают высокой активностью фермента щелочной фосфатазы, которая свидетельствует о тотипотентности этих клеток. Одновременно с этим у клеток высокая активность фермента теломе-

разы, которая, как известно, удлиняет теломеры хромосом или препятствует их укорочению и тем самым продлевает клетке жизнь.

Фетальные стволовые клетки (ФСК)

Фетальные клетки получают от плода человека во время естественного или искусственного аборта. Обычно это соответствует сроку беременности от 6 до 12 нед. Эти клетки являются уже частично детерминированными, соматическими (тканеспецифическими), прошедшими первичную дифференцировку. Изучены три вида фетальных стволовых клеток: нейрональные стволовые клетки, гемопоэтические стволовые клетки и клетки-предшественницы, вырабатывающие инсулин. Использование ФСК для трансплантации проблематично по различным причинам, в том числе и религиозного характера, эти проблемные вопросы пока еще находятся на стадии разработок и требуют осторожности из-за возможного вирусного инфицирования реципиента.

Региональные (взрослые) стволовые клетки, РСК (лат. regionalis — областной) — мультипотентные соматические клетки взрослого организма, способные к дифференцировке в зрелые клетки своего органа и трансдифференцировке. РСК сохраняют многие свойства эмбриональных стволовых клеток и содержат эмбриональные белковые маркеры. Они составляют небольшую часть клеток различных органов, причем их количество резко уменьшается с возрастом. РСК располагаются в определенных тканях и органах в постнатальный период (по некоторым данным, в разряд РСК следует включать и РСК пренатальных органов). Описаны гемопоэтические, эпидермальные, мезенхимальные, нейрональные и печеночные стволовые клетки. Например, стволовые клетки нервной ткани обнаруживаются в головном мозге, способны дифференцироваться в нейроны, астроциты, олигодендроциты. Они могут быть мульти- или полипотентными. Возможно, часть ЭСК остается в некоторых тканях организма. Основные источники получения стволовых клеток для регенераторной медицины: эмбрион на разных стадиях (этические проблемы), пуповинная кровь, костный мозг, жировая ткань.

Свойства стволовых клеток

Далее раскрываются основные свойства стволовых клеток. В основном в литературе указываются следующие основные свойства стволо-

вых клеток [8].

1. Способность к митотическому делению. Хотя сами СК делятся достаточно редко, у их потомков пролиферативная активность существенно возрастает. Кроме того, в митотический цикл могут вовлекаться и сами СК, например, ГСК костного мозга начинают делиться при существенных кровопотерях, а стволовые клетки эпидермиса кожи – при значительных его повреждениях.

Деление стволовых клеток может протекать в трех вариантах.

1) симметричный стволовой митоз. При нем в результате деления материнской стволовой клетки образуются две дочерние стволовые клетки крови. При симметричном митозе, как считается, создаются условия для защиты генома стволовых клеток, поскольку вновь синтезированная ДНК передается сразу в две стволовые клетки. Это может защищать СК от ошибок репликации и опухолевого перерождения.

2) симметричный дифференцирующий (квантальный) митоз, при котором из материнской стволовой клетки образуются две полустволовые клетки. Таким образом, в ходе этой разновидности митоза одновременно совершаются и дифференцировочные процессы.

3) Ассиметричный митоз. В этом случае одна из дочерних клеток остается стволовой, а вторая превращается в транзиторную (полустволовую и затем дифференцирующуюся).

Очевидно, эти три разновидности митоза могут сочетаться в различных пропорциях в зависимости от конкретных потребностей организма. Ассиметричный митоз, как установлено, играет важную роль в поддержании стволовыми клетками численности собственной популяции в условиях нормы. Так, если бы в условиях нормы СК делились симметричным митозом, то число недифференцированных и способных к делению клеток возрастало бы. Это привело бы к неуправляемой пролиферации, нарушению архитектоники ткани и возникновению ракового процесса [9]. Установлена отчетливая прямая зависимость между нарушением ассиметричного деления и частотой развития опухолевых процессов.

Для реализации ассиметричного митоза необходимы определенные условия. Во-первых, материнская стволовая клетка, которой предстоит ассиметричное деление, должна подвергнуться поляризации, т.е. должны сформироваться два различных по строению полюса. В эпителиях та-

кие полюсы (называемые базальным и апикальным) формируются в результате адгезии СК к базальной мембране. Во-вторых, веретено деления должно расположиться вдоль оси поляризации клетки. В-третьих, образовавшиеся дочерние клетки должны содержать разные детерминанты, определяющие их дальнейшую судьбу.

2. Поддержание численности собственной популяции СК без притока клеток извне (иммортальность, т.е. бессмертие) осуществляется не только за счет митотических делений самой СК и ее ближайших потомков, но и за счет оттока клеток в процессе терминальной дифференцировки. Это регулируется также путем апоптоза части СК, особенно тех, которые накопили в геноме выше критического уровня мутаций. В таком случае срабатывает механизм экстренной защиты генома с помощью продукта гена p53, белка с аналогичным названием. Этот ген часто называют сторожевым псом здорового генома. Он выводит СК из митотического цикла в состояния покоя G0, где происходит ликвидация мутационных изменений, «ремонт» генома. При этом клетка может вновь возвращаться в митотический цикл и делиться.

При наличии мутаций, которые невозможно исправить, белок P53 направляет клетку на апоптоз. Апоптозу подвержены стволовые клетки, в которых отсутствует экспрессия гена Bcl-2, гена «бессмертия». Это происходит, например, со стволовыми клетками тонкой кишки (бескаемчатыми энтероцитами), в которой благодаря постоянному контролю за состоянием генома опухолевые процессы редки. В то же время в СК эпителия желудка (шеечные мукоциты) в связи с постоянной экспрессией гена бессмертия Bcl-2 геном не подлежит «ремонту», и эти СК устойчивы к апоптозу. При этом раковые процессы, развивающиеся из покровного эпителия желудка, достаточно часты.

3. Способность к дифференцировке и трансдифференцировке. Дифференцировка клеток – это процесс реализации ими заложенной в генетической программе развития с формированием специализированных клеток, способных к выполнению специфических функций. При дифференцировке клетки изменяются не только ее размеры, форма, внутренняя структура, но и функции, обеспечиваемые этими структурными перестройками, а также метаболизм. Способность стволовых клеток к дифференцировке в учебной и научной литературе обсуждается уже

достаточно давно. Что касается трансдифференцировки, то впервые о ней заговорили в конце XX века (1998 г.). Тогда было установлено, что гемопоэтические стволовые клетки (ГКК) могут дифференцироваться в поперечнополосатые скелетные мышечные волокна. Эти сенсационные данные послужили началом взрывообразного бурного исследования такой пластичности СК. Такое свойство этих клеток так и называется – «пластичность стволовых клеток». Количество работ, в которых после первого упоминания об этом явлении в литературе сообщалось о пластичности СК, нарастало лавинообразно. В них утверждалось, что стволовая кровяная клетка (СКК) может дифференцироваться практически в любые тканевые клетки, в том числе в нервные, сердечные мышечные (кардиомиоциты), гепатоциты, эпидермис, эпителий легких и кишечника, почек, сосуды, клетки поджелудочной железы (как инсулин продуцирующие В-инсулоциты, так и все остальные типы панкреатических клеток) и др.

Таким образом, трансдифференцировка (лат. trans - сквозь, через и differentia - различие) – превращение взрослой региональной стволовой клетки в клетки или ткани другого вида или типа, иными словами, переход клетки или ткани от одного дифференцированного состояния к другому.

4. Аутосинтетический тип обмена веществ. Для стволовых клеток крови, как и для всех камбиальных клеток, характерен аутосинтетический тип обмена веществ, т.е. они ничего не продуцируют для нужд организма, и все синтезируемые ими вещества используют на собственные нужды, связанные с процессами воспроизводства и дифференцировки.

5. Достаточно выраженная устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды. Стволовые клетки по сравнению с более дифференцированными клетками обладают более высокой устойчивостью к действию неблагоприятных и повреждающих факторов. Эта устойчивость объясняется несколькими факторами. Во-первых, у них хроматин находится в более конденсированном состоянии, чем у их пролиферирующих потомков. Во-вторых, СК обычно защищены от действия вредных факторов местоположением. Так, ГСК находятся в полостях плоских костей (крыло подвздошной кости, позвонки, грудина), эпидермальные СК находятся на вершинах гребешков, т.е. погружены в соединительную ткань сосочков дермы, а СК кишки

залегают на дне крипт. Важным для СК обстоятельством является хорошее кровоснабжение этих участков тканей.

6. Особая локализация в тканях и органах. СК находятся в так называемых «нишах» – участках органов, в которых для них создается специфическое микроокружение. Термин «ниша» ввел Р. Скофилд (1978), который понимал под нишей участок органа, в котором создается микроокружение для стволовых клеток. В настоящее время в состав ниши включают следующие компоненты: 1) микрососудистый элемент; 2) нервный компонент 3) клетки микроокружения. Это могут быть соединительнотканые клетки, но также и клетки иного происхождения; 4) внеклеточный матрикс, в котором находятся регуляторные молекулы, определяющие развитие СК, так называемая «молекулярная среда» по В.В. Терских и соавт. (2009). Как указывают эти авторы, взаимодействие с внеклеточным матриксом является для стволовых клеток источником различных сигналов, причем не только позиционных, но и регуляторных, направленных на экспрессию генов стволовых клеток, отвечающих за пролиферацию и дифференцировку СК.

Внеклеточный матрикс может иметь различное строение и различный состав. Так, в рыхлой соединительной ткани, хрящевой, костной, белой жировой и других тканях внеклеточный матрикс состоит из основного вещества и волокон (коллагеновых, эластических и ретикулярных). Предполагается, что участки внеклеточного матрикса, непосредственно контактирующие со стволовыми клетками и являющиеся для них частью ниши, отличаются от других его участков, не имеющих к этим нишам никакого отношения. Так, В.В. Терских и соавт. (2009) приводят данные G. Cotsarelis e.a. (1989) о нише стволовых клеток роговицы глаза, которая локализуется в области лимба. Эпителий лимба, содержащий СК роговицы глаза, располагается на рыхлой соединительной ткани, которая очень хорошо васкуляризована. Эпителиоциты при этом содержат гранулы меланина, который, как известно, защищает клетки от действия ультрафиолетовых лучей, рентгеновского, лазерного излучения, а также от действия свободных радикалов. В то же время остальная масса переднего эпителия роговицы, состоящая из транзитных клеток, расположена на плотной соединительной ткани, лишенной гемокапилляров.

Особой разновидностью внеклеточного

матрикса являются базальные мембраны. Они сопровождают эпителиальные, а также нервные и мышечные ткани. Взаимодействующие с этими мембранами тканевые клетки (эпителиальные и другие) содержат на своих плазмолеммах большое количество рецепторов, обеспечивающих прикрепление этих клеток к базальной мембране. Одной из разновидностей молекулы, существующей в нескольких изоформах, являются интегрины. Так, интегрин $\alpha 2\beta 1$ связывает СК с коллагеном IV, интегрин $\alpha 3$ – с ламинином 5, интегрин $\alpha 5$ – с фибронектином, интегрин $\alpha 9$ – с тенесцином [9].

Большое значение для межклеточных взаимодействий и контактов, обеспечивающих нормальное функционирование стволовых клеток, играют кадгеринины. Эта разновидность адгезионных молекул использует для формирования межклеточных контактов ионы кальция [9].

7. Способность к апоптозу. Потеря связи с внеклеточным матриксом или вообще с нишей ведет к гибели стволовых клеток. Эта форма клеточной гибели называется анойкисом, хотя ничем не отличается по своей сути от апоптоза. Анойкис, как полагают, необходим для поддержания тканевого гомеостаза. Он включается тогда, когда клетка связывается с измененным внеклеточным матриксом и возникает угроза нарушения гомеостаза ткани и стволовых клеток. Так же, как и обычный апоптоз, анойкис может запускаться внешними и внутренними сигнальными путями. В конечном счете при анойкисе, как и при апоптозе в классическом варианте, происходит активация каспаз и следующая за этим нуклеосомная фрагментация ДНК. При внешнем пути реализации анойкиса гибель клетки запускается через активацию расположенных на ее поверхности рецепторов смерти.

Следует помнить, что апоптоз играет большую роль в биологии стволовых клеток. Благодаря ему происходит поддержание постоянства популяции СК. Так, при травмах, например, кожного покрова, происходит активация стволовых клеток (прежде всего СК кератиноцитов эпидермиса и СК фибробластов дермы и гиподермы) и они осуществляют наработку этих основных клеток кожи. При этом вначале количество клеток оказывается значительно большим, чем это необходимо для восстановления дефекта, но в последующем благодаря апоптозу количество СК уменьшается и тканевые системы постепенно возвращаются к первоначальному количествен-

ному состоянию. Кроме приведенного примера роли апоптоза стволовых клеток в гомеостазе ткани, следует отметить также большую его роль в элиминации стволовых клеток с мутациями ДНК.

8. Мобилизация и хоминг СК. Однако установлено, что в течение некоторого времени СК могут покидать ниши – мобилизоваться (мобилизация, фр. mobilisation, от mobiliser – приводить в движение), при этом меняя свой «оседлый» фенотип на фенотип миграционный. На это время они оказываются защищенными от апоптоза несмотря на то, что связь с микроокружением потеряна. Однако стволовые клетки имеют удивительное свойство находить свою нишу и возвращаться в нее. Это свойство называется хомингом (от англ. home – направляться домой). На то время, пока стволовая клетка отсутствует в своей нише и совершает миграционные процессы, ниша является вакантной, но может и колонизироваться другими СК [9].

На способности СК колонизировать ниши основана трансплантация красного костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток. Впервые явление хоминга обнаружили Дж. Тилл и МакКуллох в 1961 году. Они облучали летальными дозами мышей и вводили им клетки костного мозга здоровых мышей-доноров. Это позволило сохранить жизнь мышам-реципиентам. У них авторы статьи обнаружили в селезенке колонии, которые представляли собой ниши, заселенные донорскими кроветворными клетками. Метод изучения селезеночных колоний, за изобретение которого авторы получили Нобелевскую премию, в свое время позволил изучить многие свойства гемопоэтических СК.

Мобилизацию ГСК широко используют в настоящее время в клинике при пересадке костного мозга. Для этого используют циклофосфамид и G-CSF (фактор, стимулирующий колонии гранулоцитов). В то же время на ниши стволовых клеток можно воздействовать лекарственными и другими препаратами для защиты находящихся в ней СК. Так, для защиты ГСК используют введение паратгормона, который защищает ГСК от миелотоксического шока и увеличения способности заселять эти ниши трансплантированными СК. Хоминг стволовых клеток также можно регулировать различными веществами, в частности, его можно стимулировать различными цитокинами, хемокинами и протеолитическими ферментами [9].

Злокачественные стволовые клетки, очевидно, также используют те же механизмы хоминга, что и нормальные СК. Однако в отличие от нормальных СК злокачественные СК могут осуществлять с клетками ниши обмен цитокинами и ферментами и при этом модифицировать микроокружение в нишах. Это ведет к возникновению у злокачественных клеток способности к автономной пролиферации и повышенной устойчивости к неблагоприятным факторам. Метастазирование опухолевых клеток связано с колонизацией ими подходящих ниш. D.A. Sipkins e.a. (2005) показали, что в костном мозге мыши в микрососудистом русле есть специализированные участки, в которых эндотелиоциты экспрессируют молекулы адгезии клеток E-селектин и хемоаттрактант SDF-1 (англ. Stromal cell-derived factor-1). Нарушение взаимодействия SDF-1 с его рецептором CXCR-4 подавляет хоминг и метастазирование опухолевых клеток. С другой стороны, имеются сведения, что озлокачествленные клетки способны сами с помощью растворимых цитокинов создавать подходящее для метастазирования микроокружение в нишах [9].

9. Особенности строения СК. А.А. Максимов указывал на такое свойство ГСК, как лимфоцитоподобная форма. Он постулировал, что ГСК похожа на малый лимфоцит. Однако в последнее время показано, что эти клетки демонстрируют фенотипическую неоднородность: одни из них морфологически похожи на малые лимфоциты, тогда как другие напоминают большие лимфоциты. Другие СК, например нейрональная СК, имеют отростчатую форму. Как считает В.Л. Быков (2009), это может быть связано с неодинаковым уровнем коммитирования данных клеток, с одной стороны, и разными источниками получения их – с другой.

10. Высокая активность щелочной фосфатазы и теломеразы. Щелочная фосфатаза (ЩФ) является давно известным маркером первичных половых и эмбриональных стволовых клеток млекопитающих и других позвоночных животных. Ее активность снижается при уменьшении дифференцировочных потенциалов СК. В собственных работах (О.Д. Мяделец, 1995) показано, что при заживлении кожной раны, нанесенной крысам на фоне глубокой гипотермии, происходит формирование органотипического регенерата с восстановлением волос и сальных желез. При этом по краю раны обнаруживаются стволовые клетки эпидермиса и их потомки,

содержащие высокую активность ЩФ. По мере завершения роста сформированных волос активность фермента постепенно снижалась до практически полного исчезновения.

В 1962 году Леонард Хайфлик установил, что количество делений клеток человека в клеточной культуре ограничено. При этом делясь и приближаясь к критической границе, клетки постепенно замедляют митотическую активность, стареют и погибают. Это свойство назвали пределом Хайфлика. Русский биолог А.М. Оловников в 1971 году для объяснения экспериментальных данных Леонарда Хейфлика выдвинул теорию маргинотомии – отсчета клеточных делений и старения в результате недорепликации последовательностей ДНК на концах хромосом (теломерных участков). А.М. Оловников предположил, что отсутствие у бактерий старения обусловлено тем, что у них ДНК имеет кольцевую форму. Поскольку раковые и стволовые клетки также обладают бессмертием, А.М. Оловников высказал предположение, что теломерные последовательности в этих клетках защищены тем, что при каждом делении происходит их удлинение за счет деятельности особого фермента – тандем-ДНК-полимеразы (современное название – теломераза). В последующие годы (1972, 1973) А.М. Оловников издал две статьи (в русском и зарубежном англоязычном журналах), в которых подробно рассмотрел возможности использования своей гипотезы для объяснения старения, канцерогенеза и иммунных реакций. Таким образом, А.М. Оловниковым впервые было высказано предположение о теломерном механизме ограничения числа делений клетки. В 1998 году этот вывод подтвердили американские исследователи-экспериментаторы, преодолевшие лимит Хейфлика путём активации теломеразы.

Теломераза – фермент, добавляющий особые повторяющиеся последовательности ДНК (TTAGGG у позвоночных) к 3'-концу цепи ДНК на участках теломеров, расположенных на концах хромосом эукариотических клеток.

Теломеры представляют собой повторяющуюся последовательность ДНК на концах хромосом. Всякий раз, когда клетка воспроизводится, теломеры становятся короче. В конечном счете, теломеры укорачиваются настолько, что клетка теряет способность к делению, теряет резистентность, подвергается патологическим изменениям и в итоге клетка погибает. Таким образом, теломеры призваны стабилизировать

хромосомы, однако при каждом делении клетки теломерные участки укорачиваются.

Теломераза была обнаружена Кэрл Грейдер в 1984 году. В том же году Элизабет Блэкберн, профессор биохимии и биофизики в Калифорнийском университете в Сан-Франциско, обнаружила, что теломераза способна удлинять теломеры, синтезируя ДНК из РНК-прайма. Таким образом, была подтверждена гипотеза А.М. Оловникова о наличии специального фермента, названного им тандем-ДНК-полимеразой (т.е. теломеразы), который защищает хромосомы от концевой недорепликации.

Теломераза является обратной транскриптазой. Она состоит из белковой части и тесно связанной с ней особой молекулы РНК, которая используется в качестве матрицы для обратной транскрипции во время удлинения теломеров. К настоящему времени количество исследований и статей, посвященных теломеразе, измеряется тысячами. Основной функцией ее является поддержание геномной стабильности, предотвращение нежелательной активации путей повреждения ДНК и регуляция старения клеток. Механизм работы теломеразы заключается в повторном копировании матрицы. Он включает следующие этапы: 1) связывание фермента с теломерной ДНК; 2) элонгация: добавление дезоксирибонуклеотидов к 3'-концу G-богатой цепи теломера; 3) перемещение (транслокация) фермента на концевую часть новообразованной цепи. Теломеразы наиболее активны в половых клетках, к хромосомам которых они надстраивают недореплицированные участки и тем самым обеспечивают их бессмертие. В других стволовых клетках она менее активна, лишь частично ликвидируя недорепликацию [9].

В 2009 году за открытие защиты хромосом от концевой недорепликации теломерами и теломеразы в соответствии с теорией А.М. Оловникова американским ученым Элизабет Блэкберн (австралийка, работавшая в США), Кэрл Грейдер и Джеку Шостаку присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине.

Заключение

В настоящей статье изложены основные принципы по внедрению в учебный процесс информации о стволовых клетках, причем сделан основной упор на вопросы, которые освещаются в лекциях весеннего семестра, прежде всего, во вводной лекции лекционного курса по предмету (раздел «Цитология»). В последующих статьях будет продолжено рассмотрение свойств стволовых клеток, в частности, подробно рассмотрены региональные стволовые клетки, возможность рассмотрения информации о них на лекциях по общей и частной гистологии и на каждом конкретном лабораторном занятии по этим разделам гистологии.

Литература

1. Мезен, Н. И. Стволовые клетки : учеб.-метод. пособие / Н. И. Мезен, З. Б. Квачева, Л. М. Сычик. – 2-е изд., доп. – Минск : БГМУ, 2014. – 62 с.
2. Мяделец, О. Д. А. А. Максимум и его революционное учение о мезенхимных стволовых клетках / О. Д. Мяделец [и др.] // Вестн. ВГМУ. – 2007. – Т. 6, № 3. – С. 139–147.
3. Гистология, цитология, эмбриология : учебник / под ред. Ю. И. Афанасьева, Н. А. Юриной. – 6-е изд., перераб. и доп. – М. : ГЕОТАР-Медиа, 2012. – 800 с.
4. Кузнецов, С. Л. Гистология, цитология и эмбриология : учебник / С. Л. Кузнецов, Н. Н. Мушкамбаров. – М. : МИА, 2012. – 640 с.
5. Жункейра, Л. К. Гистология : учеб. пособие : атлас : пер. с англ. / Л. К. Жункейра, Ж. Карнейро. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 572 с.
6. Terminologia Histologica. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов / под ред. В. Банина, В. Быкова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 272 с.
7. Terminologia Embryologica. Международные термины по эмбриологии человека с официальным списком русских эквивалентов / под ред. Л. Л. Колесникова, Н. Н. Шевлюка, Л. М. Ерофеевой. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 422 с.
8. Попов, Б. В. Введение в клеточную биологию стволовых клеток / Б. В. Попов. – СПб. : СпецЛит, 2010. – 352 с.
9. Биология стволовых клеток и клеточные технологии : в 2 т. / под ред. М. А. Пальцева. – М. : Медицина, 2009. – 2 т.
10. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками / Е. Б. Владимирская [и др.]. – М. : МЕДПРАКТИКА-М, 2005. – 392 с.
11. Нимер, Н. С. Стволовые клетки (обзор литературы) / Н. С. Нимер // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – № 1. – С. 46–51.

Поступила 01.11.2017 г.

Принята в печать 04.12.2017 г.

References

1. Mezen NI, Kvacheva ZB, Sychik LM. Stem cells: ucheb-metod posobie. 2-e izd dop. Minsk, RB: BGMU; 2014. 62 p. (In Russ.)
2. Myadelets OD, Kichigina TN, Grushin VN, Myadelets NYa, Myadelets MO. AA Maximov and his revolutionary doctrine of mesenchymal stem cells. Vestn VGMU. 2007;6(3):139-47. (In Russ.)
3. Afanas'yev Yul, Yurina NA, red. Histology, cytology, embryology: uchebnik. 6-e izd pererab i dop. Moscow, RF: GEOTAR-Media; 2012. 800 p. (In Russ.)
4. Kuznetsov SL, Mushkambarov NN. Histology, cytology, embryology. Moscow, RF: MIA; 2012. 640 p. (In Russ.)
5. Zhunkeyra LK, Karneyro Zh. Histology: ucheb posobie: atlas: per s angl. Moscow, RF: GEOTAR-Media; 2009. 572 p. (In Russ.)
6. Banin V, Bykov V, red. Terminologia Histologica. The international terms on a cytology and a histology of the person with the official list of the Russian equivalents. Moscow, RF: GEOTAR-Media; 2009. 272 p. (In Russ.)
7. Kolesnikov LL, Shevlyuk NN, Erofeeva LM, red. Terminologia Embryologica. The international terms on a cytology and a histology of the person with the official list of the Russian equivalents. Moscow, RF: GEOTAR-Media; 2014. 422 p. (In Russ.)
8. Popov BV. Introduction to cellular biology of stem cells. Saint Petersburg, RF: SpetsLit; 2010. 352 p. (In Russ.)
9. Pal'tsev MA, red. Stem cell biology and cell technology: v 2 t. Moscow, RF: Meditsina; 2009. 2 t. (In Russ.)
10. Vladimirskaia EB, Mayorova OA, Rumyantsev SA, Rumyantsev AG. Biological bases and prospects of therapy by stem cells. Moscow, RF: MEDPRAKTIKA-M; 2005. 392 p. (In Russ.)
11. Nimer NS. Stem cells (review of literature). Problemy Zdorov'ia Ekologii. 2009;(1):46-51. (In Russ.)

Submitted 01.11.2017

Accepted 04.12.2017

Сведения об авторах:

Мяделец О.Д. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, Витебский государственный медицинский университет;

Лебедева Е.И. – к.б.н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Витебский государственный медицинский университет;

Мяделец Н.Я. – преподаватель гистологии и генетики, Витебский государственный медицинский колледж.

Information about authors:

Myadelets O.D. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Histology, Cytology & Embryology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Lebedeva E.I. – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of Histology, Cytology & Embryology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Myadelets N.Y. – lecturer of histology and genetics, Vitebsk State Medical College.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии. E-mail: Lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru – Лебедева Елена Ивановна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210023, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Histology, Cytology & Embryology. E-mail: Lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru – Elena I. Lebedeva.