

## ПРЕПОДАВАНИЕ УЧЕНИЯ О СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ НА КАФЕДРЕ ГИСТОЛОГИИ, ЦИТОЛОГИИ И ЭМБРИОЛОГИИ: РЕГИОНАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И РЕГЕНЕРАЦИЯ ТКАНЕЙ

МЯДЕЛЕЦ О.Д., ЛЕБЕДЕВА Е.И., ГРУШИН В.Н., ПИЛИПЕНКО Н.Н.,  
КИЧИГИНА Т.Н., СОБОЛЕВСКАЯ И.С., КОЛМОГОРОВ В.И.

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

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №1. – С. 113-124.

## TEACHING OF STEM CELLS THEORY AT THE CHAIR OF HISTOLOGY, CYTOLOGY AND EMBRYOLOGY: REGIONAL STEM CELLS AND TISSUE REGENERATION

MYADELETS O.D., LEBEDEVA E.I., GRUSHIN V.N., PILIPENKO N.N.,  
KICHIGINA T.N., SOBOLEVSKAYA I.S., KOLMOGOROV V.I.

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

Vestnik VGMU. 2018;17(1):113-124.

### Резюме.

Настоящая статья посвящена морфофункциональным свойствам региональных стволовых клеток. Как известно, это мультипотентные или унипотентные стволовые клетки тканей и органов взрослого организма человека и животных. Они в небольших количествах находятся в различных органах и тканях и являются одним из факторов тканевого гомеостаза. Теоретически можно считать, что такие клетки имеются во всех тканях и органах животного организма. В статье подробно рассказывается о современных достижениях в изучении региональных стволовых клетках эпителиальных тканей: межфолликулярного эпидермиса кожи и волосяного фолликула, многослойного плоского неороговевающего эпителия роговицы глаза, однослойных столбчатых эпителиев желудка и кишечника. Подробно рассмотрены строение ниш этих стволовых клеток, регуляции клеток в нишах.

*Ключевые слова:* региональные стволовые клетки, эпидермис, волосяные фолликулы, крипты, перикрипальные миофибробласты.

### Abstract.

This article is devoted to the morphofunctional properties of regional stem cells. As it is known, these are multipotent or unipotent stem cells of tissues and organs of an adult human and animal organism. They are present in small amounts in various organs and tissues and are one of the factors of tissue homeostasis. Theoretically, it is possible to consider that such cells are located in all tissues and organs of an animal organism. The article describes in detail the latest achievements in the study of regional stem cells of epithelial tissues, such as the interfollicular epidermis of the skin and the hair follicle, the stratified squamous nonkeratinized epithelium of the cornea of the eye, the simple columnar epithelium of the stomach and intestine. The structure of these stem cells niches, regulation of cells in niches are also considered in detail.

*Key words:* regional stem cells, epidermis, hair follicle, crypts, pericryptal myofibroblasts.

В настоящей статье будут рассмотрены цитофизиология региональных стволовых клеток.

Региональные (соматические) стволовые клетки, РСК, ССК (regional stem cells) [лат. regionalis – областной] – мультипотентные соматические клетки взрослого организма человека и жи-

вотных. РСК в небольшом количестве находятся в различных органах и тканях взрослых индивидуумов («взрослые» стволовые клетки): в нервной ткани и органах центральной нервной системы (нейральные стволовые клетки, НСК); в печени, легких, сердце, эпидермисе кожи, роговице глаза,

гемопозитические СК и т.д. Как указывает Б.В. Попов [1], «...теоретически можно считать, что число РСК соответствует числу тканей, однако в настоящее время ССК не всех тканей идентифицированы и охарактеризованы». РСК по уровню своих потенций могут быть как мульти-, так и унипотентными. Так, пневмоциты II типа легких, овальные клетки печени можно считать унипотентными СК (следует, однако, отметить, что в отношении унипотентности овальных клеток печени вопрос спорный, поскольку они могут дифференцироваться как в гепатоциты, так и в холангиоциты, а, возможно, и в тканевые клетки других органов). В то же время, гемопозитические стволовые клетки (ГСК) и стволовые клетки стромы жировой ткани (СКЖТ) являются мультипотентными. Наряду со способностью к дифференцировке в зрелые клетки конкретных тканей и органов РСК обладают пластичностью, т.е. способны трансдифференцироваться в зрелые клетки другого типа того же или другого органа. Например, такой способностью обладают гемопозитические, мезенхимальные, стромальные СК жировой ткани и др. РСК сохраняют многие свойства эмбриональных стволовых клеток (см. Эмбриональные стволовые клетки) и содержат эмбриональные белковые маркеры. Количество РСК, как правило, уменьшается с возрастом, иногда до полного исчезновения у старых индивидуумов [1]. Это ведет к атрофии органов и тканей при старении. Примером является мышечная система. При этом поперечнополосатые мышцы различаются по степени атрофии. Так, атрофия межреберных мышц протекает медленнее, чем атрофия скелетных мышц, которая в последнем случае имеет индивидуальные особенности и в меньшей степени проявляется при постоянных мышечных нагрузках.

Пластичность РСК зависит от органа, в то же время она не подчиняется правилу «родства» клеток. Так, мезенхимальные стволовые клетки (МСК) эндометрия обладают гораздо большей способностью к трансдифференцировке, чем МСК костного мозга [1, 2].

**Характеристика отдельных РСК тканей. Многослойные эпителии. Региональные стволовые клетки эпидермиса кожи.** К многослойным эпителиям относятся многослойные неороговевающие, многослойный ороговевающий и переходный эпителии. Общим структурным признаком этих эпителиев является многослойность эпителиального пласта, т.е. в них с базальной мембра-

ной связана только часть (меньшая) эпителиоцитов, а большая часть клеток лежит друг на друге, формируя более или менее выраженные слои. Это так называемая стратификация эпителия, или его расслоение, происходящее во время терминальной дифференцировки. Многослойность как главный признак данных эпителиев определяет свойства их региональных стволовых клеток, которые, во-первых, хорошо защищены от вредных факторов внешней среды местоположением, а во-вторых, из-за наличия достаточно сложно устроенной плотной базальной мембраны у них несколько ограничена возможность «общения» с помощью регуляторных молекул с клетками рыхлой соединительной ткани сосочкового слоя дермы.

**Региональные стволовые клетки интерфолликулярного эпидермиса (РЭпСК) и регенерация эпидермиса.** В многослойных эпителиях СК расположены в базальном слое. В многослойном плоском ороговевающем эпителии кожи (эпидермисе) содержатся два вида клеток, способных к митотическому делению и играющих важную роль в регенераторных процессах: 1) редко делящиеся РЭпСК с высокими способностями к самоподдержанию и способностью к терминальной дифференцировке; 2) медленно пролиферирующие транзиторные клетки [1]. Клетки первой группы лежат на базальной мембране и тесно с ней взаимодействуют не только механически (с помощью полудесмосом), но и с помощью набора адгезионных молекул, таких как интегрины  $\alpha 6$ ,  $\beta 1$ , катенины и др. Кроме того, у этих клеток имеются такие маркеры, как транскрипционные факторы Tcf-3, dN-p63 $\alpha$ , а также цитокератины 5 и 14.

Стволовые клетки эпидермиса характеризуются низкими митотической активностью и способностью приступать к терминальной дифференцировке, выраженной экспрессией рецепторов для белков внеклеточного матрикса (интегринов  $\beta 1$ ), а также и адгезионной способностью. Образующимися в результате деления этих клеток формируется вторая группа (субпопуляция) способных к делению клеток – группа редко пролиферирующих транзиторных клеток эпидермиса. Последние совершают 3-5 делений и в дальнейшем приступают к терминальной дифференцировке. Митотическая активность базальных клеток зависит от толщины эпителиального пласта и контролируется гормонами и факторами роста.

Стволовые клетки эпидермиса являются родоначальницами эпидермальных пролифера-

тивных единиц (ЭПЕ), представления о которых выдвинул К.С. Поттен (1974). Согласно С.С. Potten [3], в состав ЭПЕ входят 10-11 базальных клеток, из которых примерно 7 способны к пролиферации. Остальные 3-4 клетки являются постмитотическими, кроме того, одна из них является клеткой Лангерганса, которая, как полагают, входит в состав клеток эпидермальной ниши и способна регулировать поведение ЭпРСК. В целом в состав ЭПЕ входят около 30 клеток и роговых чешуек. В составе базального слоя ЭПЕ может находиться около 6-7 РЭпСК. Согласно другим данным, клон клеток, который формируется одной РЭпСК, занимает в эпидермисе участок, в несколько раз превышающий объем одной ЭПЕ, и это может свидетельствовать о том, что доля СК в эпидермисе в несколько раз меньше, чем предполагал С.С. Potten (1974). Есть данные, что ЭпРСК способны мигрировать в соседние ЭПЕ, а также указывающие на то, что структуры, подобные ЭПЕ, могут организовываться спонтанно в культуре ткани. Выращенные в культуре ткани и пересаженные реципиенту на область раны, эпидермальные пласты в последующем также формируют во вновь образованном эпидермисе эпидермальные пролиферативные единицы, что подтверждает исследования С.С. Potten (1974) в отношении ЭПЕ [3].

При дифференцировке кератиноциты теряют контакт с базальной мембраной в результате уменьшения на плазмолеммах этих клеток количества интегринов  $\alpha 6$  и  $\beta 1$ . Происходит также замена цитокератинов 5 и 14 на цитокератины 15 и 19. В последнее время установлено, что РЭпСК содержат транскрипционный фактор р63, который относится к семейству белков, включающих белки р53 и р73. Белок р63 является важным для морфогенеза эпидермиса. Мыши, лишённые этого белка, не способны к стратификации эпидермиса, т.е. не могут формировать его слои. Их эпидермис состоит из терминально дифференцированных кератиноцитов, расположенных на дерме.

ЭпРСК отличаются от транзиторных кератиноцитов различиями в метилировании и ацетилировании гистоновых белков хромосом, т.к. переход их к дифференцировке, который осуществляется под действием транскрипционного фактора с-Мус, сопровождается модификациями гистонов.

В общем покрове в выделены две зоны с различными параметрами РЭпСК. В эпидермисе кожи подошвы (толстая кожа) находятся клетки с высоким содержанием тонофиламентов. Грани-

ца таких участков эпидермиса с базальной мембраной характеризуется сильной извилистостью в связи с формированием широких и глубоких эпидермальных гребешков. В таких участках эпидермиса кератиноциты с помощью своих полудесмосом обуславливают прочное прикрепление эпидермиса к дерме. На остальных участках (тонкая кожа), где эпидермис формирует узкие и менее глубокие гребешки, кератиноциты имеют относительно округлую форму без выраженных отростков. Эти клетки имеют скудную в отношении органелл цитоплазму, содержащую много меланосом, базофильное ядро и высокое ядерно-цитоплазматическое отношение. Показано, что РЭпСК, выявляемые мечеными антителами к  $\beta 1$ -интегрину, в толстой коже находятся на вершинах гребешков, т.е. в глубине эпидермиса, тогда как в тонкой коже – у их основания [4, 5]. Это может свидетельствовать о разной степени защищенности РЭпСК местоположением, которая зависит в том числе и от интенсивности воздействия на эпидермис механического и других экстремальных факторов. В межфолликулярном эпидермисе взрослого человека такая гетерогенность расположения РЭпСК отсутствует и все СК располагаются без видимой закономерности на вершине гребешков.

Транзиторные клетки переходят в шиповатый слой и начинают экспрессировать цитокератины 1 и 10 [1]. Вместе с базальным слоем шиповатый слой эпидермиса образуют так называемый ростковый слой Мальпиги (согласно старой терминологии). При нанесении ран кожи транзиторные клетки способны митотически делиться и участвовать в заживлении кожной раны.

В зернистом слое кератиноциты синтезируют белки филагрин и кератолинин (инволюкрин). Филагрин вызывает агрегацию тонофиламентов с образованием толстых тонофибрилл, которые формируют в будущей роговой чешуйке (корнеоците) прочный каркас, препятствующий ее деформации. При этом прекератин, синтезированный ранее, модифицируется. Его молекулы укорачиваются, а между отдельными полипептидами и внутри каждого из них образуются дисульфидные связи, что придает кератину свойство нерастворимости.

Строение кератолинина (инволюкрина) также усложняется. Он покрывает плазмолемму с внутренней стороны. В его молекулах, богатых лизином, под действием фермента транслутаминазы образуются  $\epsilon(\gamma$ -глутамил)-лизиновые связи. Эти связи обеспечивают высокую прочность белка даже при действии очень сильных реагентов.

Благодаря данным связям корнеоциты (роговые чешуйки) приобретают прочную толстую (толщиной 15 нм) оболочку. Наличие такой оболочки характерно только для ороговевающего эпителия. В зернистом слое формируются также кератиносомы (гранулы Одланда), которые являются производными лизосом и содержат сложные липиды. Эти липиды выделяются в межклеточные пространства и прочно скрепляют роговые чешуйки друг с другом. Одновременно формируется защитный липидный барьер эпидермиса, препятствующий, с одной стороны, высыханию кожи и подлежащих тканей, с другой – избыточному проникновению жидкости в организм [6].

**Ниши ЭпСК интерфолликулярного эпидермиса.** В состав микроокружения (ниши) интерфолликулярного эпидермиса входят следующие структуры: 1) базальная мембрана; 2) клетки Лангерганса, которые, как считают, своими протяженными отростками определяют пространственную организацию ЭПЕ и могут влиять за счет кейлонов на митотическую активность РЭпСК, а также перемещение прегенитонных клеток в шиповатый слой; 3) клетки Меркеля, так же, как и клетки Лангерганса, имеющие отростчатую форму и секретирующие ряд гормонов, определяющих поведение РЭпСК; 4) меланоциты – отростчатые клетки, синтезирующие меланин, который защищает эти клетки от ультрафиолетового воздействия, других видов излучений и продуктов перекисного окисления липидов; 5) фибробласты сосочкового слоя дермы. Со стволовыми клетками фибробластов (СКФ) стволовые клетки эпидермиса постоянно обмениваются химическими сигналами. Так, они передают информацию СКФ о требуемом уровне их митотической активности, и в последующем образующиеся из СКФ фибробласты изменяют интенсивность продукции компонентов внеклеточного матрикса. Одновременно они посылают свои регуляторные сигналы РЭпСК.

В отношении продолжительности жизни РЭпСК существует мнение, что она очень велика. В опытах с повторными пересадками кожи установлено, что она может значительно превышать жизнь индивидуума. У мышей, продолжительность жизни которых равно около 3 лет, РЭпСК совершает около 100 митотических делений. С возрастом количество стволовых клеток эпидермиса уменьшается, но тем не менее, остается достаточно высоким [2].

**Стволовые клетки эпителия волосяных фолликулов, потовых и сальных желез кожи (РСКВФ).** В настоящее время получено много данных в отношении региональных стволовых клеток эпителия волосяных фолликулов (РСКВФ). По современному представлению, хотя они являются производными эпидермиса и в дефинитивном состоянии тесно с ним связаны как структурно, так и функционально, но, тем не менее, одновременно являются самостоятельными органами в составе общего покрова и имеют типичное органное строение. Давно известно, что при протяженных, но неглубоких травмах кожного покрова, когда межфолликулярный эпидермис отсутствует, в раневой процесс и эпителизацию раны включаются не только волосяные фолликулы, но и другие структуры общего покрова органного типа, такие как сальные и потовые железы.

В условиях нормы, при физиологической регенерации, как полагают, РСКВФ не участвуют в обновлении межфолликулярного эпидермиса. Они участвуют в регенераторном процессе этого эпидермиса при репаративной регенерации, однако после заживления и эпителизации раны РСКВФ в нем исчезают. Поэтому считается, что в коже имеются две популяции СК – РЭпСК и РСКВФ, имеющие различный генеративный потенциал. При этом последние обладают более мощными регенераторными потенциями [2].

Развитие волосяного фолликула как органа иницируется и регулируется двумя последовательными сигналами. Один из них исходит из эмбриональной дермы. Под ее влиянием формируется волосяная плакода (волосяной бугорок), который определяет место формирования будущего волоса. Паттерн (схема-образ) расположения волос регулируется градиентом промоторов и ингибиторов фолликулогенеза<sup>1</sup>. Одним из первых сигналов фолликулогенеза является Wnt/ $\beta$ -катенин (Сигнальный путь Wnt/ $\beta$ -катенин – один из внутриклеточных сигнальных путей животных, регулирующий эмбриогенез, дифференцировку клеток и развитие злокачественных опухолей;  $\beta$ -катенин – белок, находящийся в комплексе с кадгеринами – молекулами клеточной адгезии в клетках животных). Другими сигналами являются также секретлируемые лиганды из семейства BMP (BMP, Bone Morphogenetic Protein – морфогенетический

<sup>1</sup>Промотор – последовательность нуклеотидов ДНК, узнаваемая РНК-полимеразой как стартовая площадка для начала специфической транскрипции.

белок кости). Инактивация гена  $\beta$ -катенина в ходе эмбриогенеза ведет к отсутствию образования плакод волосяных фолликулов. С другой стороны, активация этого гена ведет к развитию новых волосяных фолликулов. Второй сигнал, обуславливающий развитие волосяного фолликула, также исходит из дермы и ведет к началу дифференцировки специализированных клеток, входящих в состав волосяного фолликула, а также определяет форму и полярность волоса [2].

Волосяной фолликул как структура органического уровня достаточно сложно устроен. Формирующие его клоны клеток располагаются в виде вертикальных колонок, лежащих последовательно от его наружной поверхности к мозговому веществу волоса. Наиболее наружно располагаются клетки наружного корневого влагалища, далее лежат клетки трех последовательных слоев внутреннего корневого влагалища, формирующие столбцы: клетки бледного слоя Генле, гранулосодержащего слоя Гексли и кутикулы внутреннего корневого влагалища. Внутреннее положение занимают последовательно столбцы клеток, формирующих кутикулу волоса, его корковое и мозговое вещество. Всего образуется 7 столбцов (слоев) клеток. Каждый слой (столбец) состоит из одного ряда клеток. Снаружи волосяной фолликул покрыт соединительнотканым дермальным корневым влагалищем, которое состоит из внутреннего циркулярного и наружного слоев. Таким образом, структура волосяного фолликула достаточно сложная в структурном отношении и еще более сложная в биохимическом отношении [6].

В отношении стволовых клеток волосяного фолликула ранее считали, что этими клетками являются клетки волосяной луковицы, прилегающие к дермальному сосочку. Однако в настоящее время установлено, что таковыми являются клетки, расположенные в месте прикрепления к волосяному фолликулу мышцы, поднимающей волос. Эти клетки образуют бугорок (англ. *Vulge* – бугорок, припухлость). Они редко делятся митотически и содержат 95 % всех клоногенных клеток волосяного фолликула. И только 5% их находятся в волосяной луковице. Пока еще отсутствуют эффективные методы доказательства мультипотентности клеток бугорка *in vivo*, но они получены *in vitro*.

Волосяной фолликул в течение своей жизни претерпевает 4 фазы: анагена (роста), телогена (покоя), катагена (переходная стадия от анагена к телогену) и экзогена (выпадения волос). Во время телогена, сопровождающегося постепенным

разрушением старого волоса, клетки бугорка не подвергаются апоптозу, а, наоборот, сохраняются и служат источником для развития нового волоса.

Наиболее надежными маркерами СК волосяного фолликула являются CD34, кератин 15. Еще одним кандидатом является CD200.

Таким образом, в эпителии кожи существуют две разновидности РСК. В межфолликулярном слое эпидермисе они имеют разную степень зрелости. Эпидермис организован в виде ЭПЕ, включающей стволовые, транзиторные, дифференцированные клетки и корнециты. В волосяном фолликуле имеется собственные РСК, которые обеспечивают клеточным материалом все 7 разновидностей его дифферонов: РСК бугорков и РСК луковицы. Стволовые клетки бугорков являются мультипотентными клетками и могут формировать не только все клетки волосяного фолликула, но и клетки сальных желез и межфолликулярного эпидермиса [2].

Микроокружением ниш РСКВФ являются следующие структуры.

Для РСК волосяной луковицы в области бугорка: 1) базальная мембрана эпителия; 2) двуслойное дермальное влагалище 3) фибробласты-фибробласты, 4) макрофаги, 5) адипоциты жировой ткани; себоциты сальных желез 6) межклеточное вещество (внеклеточный матрикс).

Для СК волосяных луковиц: 1) базальная мембрана эпителия; 2) меланоциты волосяной луковицы; 3) фибробласты сосочка волоса; 4) межклеточное вещество соединительной ткани сосочка.

#### ***Регионарные стволовые клетки (РСКР) многослойного плоского неороговевающего эпителия роговицы глаза.***

Многослойный эпителий роговицы глаза отличается от других неороговевающих эпителиев тем, что, во-первых, он расположен на утолщенной базальной мембране (передняя пограничная мембрана Боумана). Во-вторых, под этим эпителием располагается не собственная пластинка из рыхлой соединительной ткани, а собственное вещество роговицы, построенное из плотной оформленной соединительной ткани и не содержащее сосудов. В связи с этим, во-первых, трофика этого эпителия осуществляется из его периферических отделов, т.е. из области лимба, где имеются кровеносные сосуды. Во-вторых, в основной части роговицы отсутствуют митотически делящиеся клетки, для которых условия не являются опти-

мальными в соответствии с первым свойством. Считалось, что регенерация роговицы происходит из клеток лимба – зоны, находящейся на границе между зоной дифференцированных клеток эпителия роговицы и зоной, покрытой многослойным плоским неороговевающим эпителием конъюнктивы, покрывающей склеру. Это было постулировано М. Дэвенджером и А. Эвенсеном (1971) и доказано с помощью тимидиновой метки. Оказалось, что РСКР находятся в базальном слое эпителия лимба на ограниченном пространстве и имеют малый размер. В 2005 г. была описана ниша стволовых клеток эпителия, которая названа эпителиальной криптой. Именно здесь эпителиоциты, которые располагаются в базальном слое эпителия крипты лимба, содержат стволовые клетки. Для них характерны следующие признаки: 1) наличие белка ABCG2,  $\alpha$ -изоформы белка рб3, виментина, интегрин  $\alpha 9$ ; 2) наличие цитокератина 19; 3) наличие кадгерина N, который экспрессируется также и на меланоцитах лимба и при культивировании *in vitro* исчезает. Считается, что эта молекула клеточной адгезии является важным компонентом закрепления РСКР в нише. В то же время, дифференцированные клетки центральных участков роговицы экспрессируют инволюктин, коннексин 43, а также цитокератины 3 и 12 [2].

В состав ниши региональных стволовых клеток роговицы входят: 1) соседние более дифференцированные клетки эпителия; 2) меланоциты, которые защищают СК от неблагоприятных факторов внешней среды; 3) базальная мембрана эпителия лимба; 4) клетки подлежащей РСТ; 5) межклеточное вещество РСТ лимба.

Культивирование РСКР имеет большое практическое значение, поскольку они могут быть использованы для восстановления целостности роговицы при повреждениях. В этом случае производится биопсия небольших участков лимба (примерно 2x2 мм) и выделенные клетки высеваются на культуральную среду. Метод впервые предложил Дж. Пеллегрини (1997). С тех пор подобное лечение поражений роговицы используется достаточно широко, его успех составляет 75% [2].

**Регионарные стволовые клетки эпителия желудка и кишки (РСКЖ и РСКК).** Эпителий желудка является однослойным столбчатым железистым эпителием. К эпителиальным структурам слизистой оболочки желудка (СОЖ) отно-

сятся также простые трубчатые железы, которые с покровным эпителием образуют структурное и функциональное единство. Наблюдается переход покровного эпителия слизистой оболочки в эпителий желез, которые в количестве около 5 окружают каждую желудочную ямку (крипту) и открываются в нее. Ямки являются результатом погружения покровного эпителия слизистой оболочки в ее собственную пластинку. В связи с этим покровный эпителий СОЖ состоит из двух зон: зоны валиков, расположенных между ямками, и ямочного эпителия, который, в свою очередь, тесно связан с эпителием желез.

РСКЖ являются родоначальниками как эпителиоцитов покровного эпителия, так и эпителия желез. Эти клетки находятся в перешейках и шейках собственных желез. Обновление покровного эпителия СОЖ осуществляется с высокой скоростью – за 3-4 сут у мышей и 4-6 сут – у человека. Индекс включения тимидиновой метки, свидетельствующий об интенсивности синтеза ДНК клетками перешейка желез, чрезвычайно высок: за 1 мин метку включают около 30 клеток эпителия данной области желез. Основная часть клеток, включивших метку (85%), направляется в сторону эпителия ямок и валиков и здесь замещает стареющие и погибающие апоптозом клетки, которые подвергаются эксфолиации.

Эпителий желез обновляется медленнее, от нескольких недель до нескольких месяцев (от 30 до 200 дней) в зависимости от разновидности клеток, которые подлежат замене. Наиболее многочисленные главные железы желудка, располагающиеся в его дне и теле, содержат следующие разновидности клеток: главные, продуцирующие ферменты; париетальные, секретирующие соляную кислоту, бикарбонаты и внутренний фактор Кастла; добавочные слизистые клетки (мукоциты); эндокринные клетки нескольких разновидностей (около 10), продуцирующие полипептидные гормоны и аутокоиды (местные гормоны, или биогенные амины); в железах находятся и сами РСКЖ. При регенерации эпителия желез потомки РСКЖ мигрируют в сторону дна желез и формируют количество линий дифференцировки, соответствующих количеству разновидностей клеток. Завершившие свой жизненный цикл клетки желез погибают *in situ* апоптозом, их фрагменты фагоцитируются соседними клетками. Возможность самообновления дифференцированных клеток желез в настоящее время отрицается [7].

**Ниши РСКЖ. Факторы, защищающие РСКЖ от действия вредных факторов внешней среды.** Защита этих клеток от вредных факторов внешней среды осуществляется: 1) наличием в цитоплазме СК определенного количества слизи; 2) местоположением – клетки спрятаны в толщу собственной пластинки слизистой оболочки (по данным Л.И. Аруина (1987)), СК эпителия желудка находятся в шейке желез и в эпителии дна ямок, прилежащем к шейке; в этих зонах обнаруживаются все клетки в состоянии митотического деления и клетки, синтезирующие ДНК); 3) наличие в геноме клеток «гена бессмертия» *bcl-2* и отсутствие гена *p53*. Ген «бессмертия» препятствует гибели клетки путем апоптоза. Наличие этого гена в любой клетке обеспечивает такое ее качество, как долгожительство. Для эпителия желудка это особенно важно, ибо он находится в условиях постоянного действия неблагоприятных факторов, из которых наиболее агрессивными являются фермент пепсин и соляная кислота, создающая кислую среду желудочного сока с рН 2,0.

Микроокружение герминативной зоны (ниши) в желудке имеет свои особенности. Только здесь с помощью сканирующего электронного микроскопа на разломах видны соединительнотканые волокна, которые фиксируют эту зону. Эта зона очень богата кровоснабжается, в результате чего создаются благоприятные условия микроциркуляции, обеспечивающей оптимальные условия пролиферации и дифференцировки. РСКЖ тесно контактируют с клетками покровного эпителия (железистыми слизистыми клетками), а также с главными, париетальными и эндокринными клетками желез. Они взаимодействуют также с миофибробластами рыхлой соединительной ткани (перикрипальные миофибробласты, см. ниже). Стромально-паренхиматозные взаимоотношения обеспечиваются взаимодействием адгезивных молекул межклеточного матрикса и интегриновых рецепторов клеток. Распределение молекул адгезии по оси желудочных желез существенно влияет на клеточную кинетику. Так, менее вязкие и более текучие ламинин и тенасцин преобладают в зонах с повышенной миграцией клеток, тогда как более вязкие Е-кадгерин и фибронектин – в зоне концевых отделов желез с низким темпом миграции клеток. Этим обусловлено и их влияние на процессы пролиферации и дифференцировки. Такие составные компоненты межклеточного вещества, как Е-кадгерин и коллаген IV, подавляют миграцию клеток вне генеративных зон, создавая

условия для их дифференцировки, не воздействуя на процессы пролиферации. Е-кадгерин используется для построения плотных межклеточных контактов. Роль его в норме мало изучена. Он препятствует обратной диффузии кислот (но не щелочей) из просвета желудка.

РСКЖ присущи характерные структурные и метаболические характеристики. Они имеют небольшие размеры, высокое ядерно-цитоплазматическое отношение. В клетках содержится большое количество свободных рибосом и полирибосом, мало митохондрий и элементов гранулярной эндоплазматической сети. В клетках выявляются гликопротеины и гликозаминогликаны, обладающие протективным действием в отношении соляной кислоты, повышение содержания которой в желудочном соке ведет к увеличению в РСКЖ включений слизи.

Из генеративной зоны коммитированные клетки мигрируют в двух направлениях: одни – в сторону покровного эпителия, замещая там стареющие и погибающие апоптозом эпителиоциты, другие же направляются в сторону собственных желез, дифференцируясь во все разновидности зрелых клеток этих желез. Впервые это установили S. Tamura e.a. (1983). Как показал Д.Н. Крофт (1977), с поверхности желудочных валиков (участки слизистой оболочки, находящиеся между соседними ямками и выступающие в просвет органа) в полость желудка слущивается до полумиллиона погибших покровных эпителиоцитов за одну минуту. Вместе с тем, локализация участков отторжения клеток в покровном эпителии желудка носит мозаичный характер и редко обнаруживается на гистологических препаратах. Интенсивность отторжения зависит от наличия или отсутствия повреждающих факторов. Так, введение в полость желудка 40% этанола экструзия увеличивается примерно в 25 раз, тогда как то же количество алкоголя в сочетании с соляной кислотой невысокой концентрации – в 230 раз, что ведет к развитию эрозий. Инволютивно измененные эпителиоциты могут погибать и *in situ*, т.е. на месте, не подвергаясь экструзии. Такие клетки могут фагоцитироваться соседними клетками эпителия или макрофагами. У человека показатель обновления покровного эпителия равен 38 клеткам на одну ямку [7]).

Если около 30 лет назад считали, что клетки эпителия главных желез желудка могут развиваться по двум путям (из недифференцированных и коммитированных клеток-предшественников,

а также путем самообновления; последний путь играет гораздо меньшую роль в поддержании тканевого гомеостаза), то в настоящее время твердо установлено, что главные, париетальные, добавочные клетки и все разновидности эндокриноцитов эпителия желез желудка формируются из недифференцированной стволовой клетки, локализуемой в области крипт (шейка и перешеек желез) путем деления этой клетки и последующей дифференцировки ее потомков.

#### **Регуляция активности РСКЖ в нишах.**

Регуляция поведения стволовых клеток желудка регулируется как с помощью механизмов паракринии, так и эндокринии. В паракринии важную роль играют собственные гормоны и аутокоиды желудочных желез, продуцируемые различными видами эндокриноцитов, которых в железах насчитывается не менее 10. Эти гормоны часто оказывают противоположный эффект на митотическую активность и другие формы поведения РСКЖ.

Так, гастрин непосредственно стимулирует митотическую активность клеток-предшественниц фундальных желез, усиливая в них синтез ДНК. Его гиперпродукция может привести к гиперплазии слизистой оболочки фундального отдела желудка. Гастрин синтезируется G-эндокриноцитами желез тела и дна желудка. Другой гормон, соматостатин, выделяемый D-клетками, подавляя секрецию гастрина и ряда биологически активных веществ (аутокоидов), опосредованно подавляет и пролиферативные процессы в популяции стволовых клеток. Кроме того, блокируя митозы СК и удлиняя тем самым фазу покоя (G<sub>0</sub>) клеточного цикла, соматостатин создает благоприятные условия для дифференцировки данных клеток.

Самую многочисленную группу индукторов пролиферации и дифференцировки клеток образуют факторы роста. К ним относятся фактор роста (эпидермиса, ФРЭ, EGF), трансформирующий фактор роста  $\alpha$  и  $\beta$  (ТФР- $\alpha$ , - $\beta$ ; TGF- $\alpha$ ,  $\beta$ ). Инсулиноподобный фактор роста (ИФР, IGF) усиливает клеточную пролиферацию и угнетает процессы дифференцировки. Трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) обладает прямо противоположным действием. Он ингибирует клеточную пролиферацию и способствует дифференцировке клеток. Фактор роста эпидермиса продуцируется слюнными железами и стимулирует как пролиферацию, так и дифференцировку клеток. TGF- $\alpha$  выявляется на мембранах тубуло-везикулярного

комплекса париетальных клеток и в цитомембранах главных клеток. Он способствует подавлению секреции соляной кислоты и одновременно является сильным митогеном, участвуя в заживлении язв слизистой оболочки желудка. Блокирование активности париетальных клеток приводит к нарушению процессов клеточного обновления в слизистой оболочке желудка. Таким образом, вырабатывая факторы роста, париетальные клетки способствуют созданию в нише РСКЖ оптимальных условий, необходимых для нормального обновления эпителия желудка.

EGF и TGF- $\alpha$  обладают вазодилатирующими свойствами, способствуя ангиогенезу в области язвенного дефекта и усиливая репаративные процессы. Однако во всех случаях рака желудка независимо от его гистологического типа увеличение экспрессии рецепторов к EGF на раковых СК стимулирует их пролиферацию.

Фактор роста гепатоцитов (ФРГ, HGF) также участвует в регуляции функционального состояния РСКЖ. Он вырабатывается активированными миофибробластами в собственной пластинке слизистой оболочки желудка.

К недавно открытым регуляторам клеточного цикла относится и семейство треофиловых пептидов TFF1 (pS2) и TFF2, получивших свое название из-за своеобразной трехлопастной структуры молекул. Пространственная структура треофиловых пептидов представляет собой три петли, состоящие из полипептидных цепей, соединенных дисульфидными мостиками. Они продуцируются секреторными клетками покровного эпителия слизистой оболочки желудка и кишки в норме, но их продукция многократно возрастает при образовании дефекта эпителиального пласта. Треофиловые пептиды участвуют в процессах клеточной дифференцировки и локализуются преимущественно в слизистой оболочке антрального отдела желудка и дуоденальных (бруннеровых) железах [8].

Все треофиловые пептиды существенно замедляют рост опухолевых клеток. Эти вещества высоко устойчивы к действию пищеварительных ферментов и оказывают регуляторные воздействия только тогда, когда находятся в просвете желудочно-кишечного тракта. Они присутствуют и в плазматических мембранах эндокриноцитов желудочно-кишечного тракта, включаются в состав их гранул и вместе с ними секреторируются в собственную пластинку слизистой оболочки. Значение этого регуляторного механизма пока не изучено. Совместное действие факторов роста по-

зволяет оптимизировать регенераторный процесс в слизистой оболочке.

Белками, контролирующими процессы пролиферации и дифференцировки, являются также белки-регуляторы апоптоза. Одним из таких белков является белок, кодируемый геном апоптоза p53. Он также называется p53-белком. Этот белок вырабатывается в фазе G2 клеточного цикла при нарушениях (повреждениях) в структуре ДНК и предотвращает патологическую репликацию ее в синтетическом периоде S. Таким образом, этот белок обладает явными антионкогенными свойствами и обнаруживается в ядре в течение G2- и S- фаз клеточного цикла. Натуральный ген p53 называют «диким». В то же время, при его мутации он приобретает свойства усиливать рост опухолей.

Ген bcl-2 кодирует белок с аналогичным обозначением. Этот белок подавляет апоптоз через блокаду кальциевых каналов клеточных мембран, а также стимулирует пролиферацию и дифференцировку клеток. Местом его локализации в клетке являются внутренние мембраны митохондрий и ядро клетки [8]. В эпителии желудка «ген бессмертия» присутствует, и это наряду с положительным (способствует выживанию клеток эпителия в условиях действия неблагоприятных факторов) имеет и отрицательный эффект: выживающие мутировавшие клетки становятся источником злокачественных опухолей.

**Регионарные стволовые клетки кишечника (РСКК).** Однослойный столбчатый каемчатый эпителий кишечника в тонкой кишке покрывает ворсинки и выстилает крипты, тогда как в толстой кишке он выстилает лишь крипты и покрывает узкие валики между ними. В связи с этим имеются особенности клеточного состава эпителия на протяжении кишечного тракта. Во-первых, имеются различия в качественном составе эпителия ворсинок и крипт тонкой кишки: если на поверхности ворсинок он состоит из каемчатых, бокаловидных и эндокринных клеток, то в эпителии, выстилающем крипты, добавляются недифференцированные бескаемчатые и экзокриноциты с ацидофильной зернистостью (клетки Панета). Во-вторых, крипты толстой кишки также отличаются по клеточному составу от крипт тонкой кишки. В эпителии, выстилающем их, клетки Панета обнаруживаются только в аппендиксе, слепой и восходящей ободочной кишках, в остальных отделах отсутствуют. Количество других клеток также отличается своими особенностями: уменьшено

число эндокриноцитов и каемчатых клеток, тогда как количество бокаловидных клеток существенно преобладает. Это отражается и на количестве, и расположении недифференцированных стволовых клеток. В тонкой кишке эти клетки занимают четвертый ряд, считая вверх от дна крипты, тогда как в толстой кишке там, где клетки Панета отсутствуют, РСКК лежат прямо на дне крипты.

В эксперименте подсчитано, что количество стволовых клеток на одну крипту составляет около 60. Эти клетки обладают различной радиочувствительностью. Поэтому считается, что популяция РСКК является неоднородной и в митотический цикл могут вступать клетки, уже находящиеся на разных этапах дифференцировки [2]. Эти клетки затем дифференцируются во все другие клетки эпителия кишки. На химерных мышках было установлено, что эпителий крипт образуется потомками одной стволовой клетки, тогда как эпителий ворсинок – потомками нескольких СК из соседствующих с каждой ворсинкой крипт (у крысы на одну ворсинку приходится 30, у мышей – 11, у человека – 5-6 крипт).

Механизмы миграции энтероцитов по ворсинкам до конца не изучены. Предполагаются несколько возможных способов их перемещения: 1) пассивное перемещение за счет роста делящихся клеток; 2) пассивный транспорт за счет деятельности перикрипальных и субэпителиальных миофибробластов; 3) пассивное перемещение за счет сокращения мышечной оболочки кишки и мышечной пластинки слизистой оболочки; 4) активное перемещение за счет собственного цитоскелета [9, 10].

В настоящее время большое внимание уделяется перикрипальным и субэпителиальным миофибробластам [8]. Перикрипальные миофибробласты окружают крипты и в верхних ее отделах переходят в субэпителиальные миофибробласты, которые тесно прилегают к базальной мембране эпителия.

В слизистой оболочке органов ЖКТ миофибробласты обнаружены преимущественно в зоне локализации эпителиальных стволовых клеток. Сначала были описаны перикрипальные миофибробласты (второе название – субэпителиальные фибробласты). Затем аналогичные клетки обнаружены в желудке, где они формируют муфту вокруг перешейков желез. Эта особенность была замечена русским патологом В.Г. Гаршиным (1939). Он предположил, что зоны расположения эпителиальных СК – дно желудочных ямок и перешейков желез и дно кишечных крипт – окружены особы-

ми соединительнотканными клетками, контролирующими их самоподдержание, пролиферацию и дифференцировку в определенные клеточные типы. Позднее эта гипотеза была подтверждена и детализирована благодаря работам в сфере генетики и молекулярной биологии, продемонстрировавшим, что важнейшей клеткой микроокружения стволовой эпителиальной клетки ЖКТ является миофибробласт. Показано, что миофибробласты формируют микронишу для эпителиальных СК, регулируя их самоподдержание, выживание и пролиферацию [8]. Эти клетки имеются в собственной пластинке слизистой оболочки вблизи крипт, в меньшем количестве – в межкрипталных валиках (гребешках) слизистой оболочки толстой кишки и в ворсинках тонкой кишки. Эти клетки имеют отростчатую форму и в собственной пластинке слизистой оболочки своими отростками соединяются в единую систему – структурно-функциональный ложный синцитий. Между отростками клеток находятся проводящие контакты, называемые фибронексусами, а также плотные контакты. Отростки этих клеток связаны также аналогичными контактами с перicyтами гемомикроциркуляторного русла. Установлены также контакты отростков клеток с нервными терминалями и базальной мембраной эпителия. При этом отростки миофибробластов могут заходить в фенестры эндотелиоцитов, а также пронизывать субэпителиальную ретикулярную пластинку и проникать отростками к базальной мембране, которая имеет многочисленные фенестры. На этих фенестрах отростки миофибробластов формируют окончания в форме площадок. Под действием ацетилхолина клетки синтезируют простагландины, активирующие слизееобразование и секрецию бикарбонатов, а также цитопротекторы и вазодилатирующие факторы. Они секретируют также коллаген IV, декорин, синдикан, ламинин и нидоген, гепарансульфат протеогликанов. За счет этих веществ миофибробласты способны модулировать дифференцировку эпителия [8].

Субэпителиальные миофибробласты, как оказалось, способны мигрировать вдоль оси «ворсинка-крипта». Эти клетки имеют, как и стволовые клетки ЖКТ, цикл «пролиферация-миграция-дифференцировка-апоптоз». Осуществив несколько делений, они мигрируют в течение 2-4 дней вдоль базальной мембраны эпителия в сторону ворсинки, претерпевая дифференцировку, после чего исчезают, очевидно, подвергаясь апоптозу. Во время миграции изменяется форма миофибробластов.

Перикрипталные миофибробласты имеют дисквидную форму, а по мере миграции в сторону ворсинки становятся отростчатыми. Они блокируют антагонисты ростовых сигналов и апоптоз стволовых клеток. Данный феномен связывают с продукцией миофибробластами специфического спектра регуляторов (факторов роста и сигнальных молекул), включая фактор роста гепатоцитов, фактор роста кератиноцитов, другие сигнальные молекулы. Кроме того, миофибробласты оказывают стимулирующее влияние на пролиферацию прогениторов покровного эпителия в ответ на повреждение, что создает условия для активного участия миофибробластов в заживлении дефектов слизистой оболочки.

Между эпителием и миофибробластами формируются тесные взаимодействия, основанные на взаимной индукции. Так, миофибробласты продуцируют гепатоцитарный и эпидермальный ростовые факторы, а рецепторы к ним экспрессируются только в эпителиальных клетках. С другой стороны, TGF $\beta$  и трефолиновые пептиды (см. ниже), вызывающие активацию миофибробластов, продуцируются эпителиальными клетками. Благодаря этим взаимодействиям миофибробласты являются мощными стимуляторами пролиферации прогениторных клеток эпителия, обеспечивая ускорение их миграции и закрытие дефекта слизистой оболочки (эрозии, язвы) монослоем эпителиальных клеток.

Оказалось, что вся система перикрипталных (субэпителиальных) миофибробластов связана с системой миофибробластов, расположенных в подслизистой и мышечной оболочках. Эти так называемые интерстициальные пейсмекерные миофибробласты так же, как и перикрипталные (субэпителиальные), с одной стороны, связаны друг с другом в трехмерную сеть с помощью фибронексусов, а с другой стороны – с сетью перикрипталных миофибробластов и, наконец, с гладкими миоцитами мышечной оболочки. Эта сократительная система непрерывно располагается по всей длине ЖКТ. Предполагается, что она может участвовать в перемещении стволовых клеток ЖКТ [11].

## Литература

1. Попов, Б. В. Введение в клеточную биологию стволовых клеток : учеб.-метод. пособие / Б. В. Попов. – СПб. : СпецЛит, 2010. – 319 с.
2. Биология стволовых клеток и клеточные технологии : в 2 т. / под ред. М. А. Пальцева. – М. : Медицина, 2009. – 2 т.
3. Potten, C. S. The epidermal proliferative unit: possible role

- of the central basal cell / C. S. Potten // Cell.Tissue Kinet. – 1974 Jan. – Vol. 7, N 1. – P. 77–88.
4. Lavker, R. M. Heterogeneity in epidermal basal keratinocytes: morphological and functional correlation / R. M. Lavker, T. T. San // Science. – 1982 Mar. – Vol. 215, N 4537. – P. 1239–1241.
  5. Lavker, R. M. Epidermal stem cells / R. M. Lavker, T. T. San // J. Invest. Dermatol. – 1983 Jul. – Vol. 81, N 1. – P. S121–127.
  6. Руководство по изучению кожного покрова млекопитающих / В. Е. Соколов [и др.]. – М. : Наука, 1988. – 280 с.
  7. Аруин, Л. И. Желудок / Л. И. Аруин // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций : руководство / под ред. Д. С. Саркисова. – М. : Медицина, 1987. – С. 196–220.
  8. Аруин, Л. И. Тонкая кишка / Л. И. Аруин // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций : руководство / под ред. Д. С. Саркисова. – М. : Медицина, 1987. – С. 220–224.
  9. Аруин, Л. И. Толстая кишка / Л. И. Аруин // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций : руководство / под ред. Д. С. Саркисова. – М. : Медицина, 1987. – С. 225–248.
  10. Баринов, Э. Ф. Гастроинтестинальные миофибробласты – роль в регуляции физиологической активности и репарации желудочно-кишечного тракта / Э. Ф. Баринов, О. Н. Сулаева // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2010. – Т. 20, № 3. – С. 9–18.
  11. Basson, M. D. Gut mucosal healing: is the science relevant? / M. D. Basson // Am. J. Pathol. – 2002 Oct. – Vol. 161, N 4. – P. 1101–1105.

*Поступила 12.12.2017 г.*

*Принята в печать 31.01.2018 г.*

## References

1. Popov BV. Introduction into cell biology of stem cells: ucheb-metod posobie. Saint-Petersburg: SpetsLit; 2010. 319 p. (In Russ.)
2. Pal'tsev MA, red. Stem cell biology and cell technology: v 2 t. Moscow, RF: Meditsina; 2009. 2 t. (In Russ.)
3. Potten CS. The epidermal proliferative unit: possible role of the central basal cell. Cell Tissue Kinet. 1974 Jan;7(1):77–88.
4. Lavker RM, San TT. Heterogeneity in epidermal basal keratinocytes: morphological and functional correlation. Science. 1982 Mar;215(4537):1239–41.
5. Lavker RM, San TT. Epidermal stem cells. J Invest Dermatol. 1983 Jul;81(1):S121–7. doi: 10.1111/1523-1747.ep12540880
6. Sokolov VE, Skurat LN, Stepanova LV, Sumina EB, Shayudash SA. A study guide to the skin of mammals. Moscow, RF: Nauka; 1988. 280 p. (In Russ.)
7. Aruin LI. Stomach. V: Sarkisov DS, red. Strukturnye osnovy adaptatsii i kompen-satsii narushennykh funktsii: rukovodstvo. Moscow, RF: Meditsina; 1987. P. 196–220. (In Russ.)
8. Aruin LI. The small intestine. V: Sarkisov DS, red. Strukturnye osnovy adaptatsii i kompensatsii narushennykh funktsii: rukovodstvo. Moscow, RF: Meditsina; 1987. P. 220–4. (In Russ.)
9. Aruin LI. Large intestine. V: Sarkisov DS, red. Strukturnye osnovy adaptatsii i kom-pensatsii narushennykh funktsii: rukovodstvo. Moscow, RF: Meditsina; 1987. P. 225–48. (In Russ.)
10. Barinov EF, Sulaeva ON. Gastrointestinal myofibroblast – role in the regulation of physiological activity and reparation of gastro-intestinal tract. Ros Zhurn Gastroenterologii Gepatologii Koloproktologii. 2010;20(3):9–18. (In Russ.)
11. Basson MD. Gut mucosal healing: is the science relevant? Am J Pathol. 2002 Oct;161(4):1101–5. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64385-4

*Submitted 12.12.2017*

*Accepted 31.01.2018*

## Сведения об авторах:

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

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

Грушин В.Н. – к.в.н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Кичигина Т.Н. – к.б.н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Соболевская И.С. – к.б.н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Пилипенко Н.Н. – старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Колмогоров В.И. – старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

**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;*

*Grushin V.N. – Candidate of Veterinary Sciences, associate professor of the Chair of Histology, Cytology & Embryology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Kichigina T.N. – – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of Histology, Cytology & Embryology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

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

*Pilipenko N.N. – senior lecturer of the Chair of Histology, Cytology & Embryology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Kolmogorov V.I. – senior lecturer of the Chair of Histology, Cytology & Embryology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.*

**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](mailto: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](mailto:Lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru) – Elena I. Lebedeva.