

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

МЯДЕЛЕЦ О.Д.<sup>1</sup>, ЛЕБЕДЕВА Е.И.<sup>1</sup>, МЯДЕЛЕЦ Н.Я.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Витебский государственный медицинский колледж, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №2. – С. 76-86.

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

MYADELETS O.D.<sup>1</sup>, LEBEDEVA E.I.<sup>1</sup>, MYADELETS N.Y.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Vitebsk State Medical College, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(2):76-86.

### Резюме.

В статье обсуждаются региональные стволовые клетки (РСК) тканей: почечного эпителия, соединительной, жировой, скелетной поперечнополосатой мышечной, сердечной и нервной тканей. Подробно описываются свойства региональных стволовых клеток, их микроокружение (ниши), роль в физиологической и репаративной регенерации тканей. Приводятся сведения о методах выявления региональных стволовых клеток, возможностях использования РСК в клинической медицине. Материал данной статьи является логическим продолжением материала двух предыдущих статей, опубликованных в журнале «Вестник Витебского государственного медицинского университета» (№ 6, 2017 г. и № 1, 2018 г.). Как и в предыдущих статьях, материал подается в форме, доступной для внедрения в учебный процесс на кафедрах гистологии, цитологии и эмбриологии. Предлагаются способы использования материала статьи в учебном процессе.

*Ключевые слова:* региональные стволовые клетки; ткани; регенерация тканей.

### Abstract.

The article discusses regional stem cells (RSC) of tissues: renal epithelium, connective, adipose, skeletal striated muscle, heart and nervous tissues. The properties of regional stem cells, their microenvironment (niches), their role in physiological and reparative regeneration of tissues are described in detail. The article provides the information on methods used to reveal regional stem cells, the possibilities of RSC using in clinical medicine. The material of this article is a logical continuation of that furnished in the two previous articles which were published in the scientific-practical journal «Vestnik of Vitebsk State Medical University» (No. 6, 2017 and No. 1, 2018). As in the previous articles, the material is presented in the form that is suitable for implementation in the educational process at the chairs of histology, cytology and embryology. The techniques of using the material from this article in the educational process are also suggested.

*Key words:* regional stem cells, tissues, tissue regeneration.

**Региональные стволовые клетки почечного эпителия.** Почечный эпителий отличается очень медленными темпами физиологической регенерации и считается долгоживущим. В ли-

тературных источниках [1] указывается, что митотически делящиеся клетки в нефронах почки не обнаруживаются, равно как и деструктивно измененные клетки. Последние являются основ-

ным признаком физиологической регенерации, и их отсутствие служит косвенным признаком медленного обновления канальцевого эпителия. В то же время, в эпителии собирательных протоков митотически делящиеся клетки обнаружены. Посттравматическая регенерация почки характеризуется тем, что, хотя этот орган человека имеет некоторую способность к самовосстановлению после повреждения, обновление целых нефронов как структурно-функциональных единиц органа невозможно. Отсюда утвердилось мнение, что стволовые клетки в почках отсутствуют. Д.С. Саркисов [1], анализируя имеющуюся литературу, указывает, что после повреждения клетки проксимальных и дистальных канальцев регенерируют на внутриклеточном уровне, тогда как эпителий собирательных протоков содержит клетки, способные к митотическому делению. Н.К. Пермяков и Л.Н. Зими́на (1987) полагают, что в процессе эволюции в почках сформировался своеобразный двойной механизм физиологической и в особенности репаративной регенерации, состоящий преимущественно либо из внутриклеточного (эпителий капсул, проксимальных и дистальных канальцев нефрона), либо клеточного вариантов (эпителий собирательных протоков).

При удалении одной почки или одной почки и части второй почки размер оставшегося органа увеличивается в 1,5-2,5 раза. При этом не только происходит гипертрофия канальцев нефрона, но и наблюдается гиперплазия их частей, проявляющаяся в увеличении их длины и ширины просвета. Увеличивается количество митотически делящихся клеток, прямо пропорциональное количеству удаленной почечной ткани. При этом у взрослых животных, в отличие от новорожденных, роль митотического деления в компенсаторной гипертрофии нефронов имеет меньшее значение (Саркисов Д.С., 1987) [1].

В последнее время появились новые сведения в отношении регенераторной способности почек. Недавно в Женском госпитале Бригхэм и Гарвардском институте стволовых клеток (США) разработали эффективный метод создания почечных клеток-предшественниц, самостоятельно собирающихся в структуры, похожие на нефроны почки. Эти структуры названы органоидами (не смешивать это понятие с органеллами клеток, которые ранее также назывались органоидами). Их, как оказалось, можно использовать для моделирования развития почек в эмбриогенезе, а также при изучении токсического воздействия на поч-

ки лекарственных веществ. Есть предположение, что стволовые клетки почек могут происходить из плюрипотентных клеток костного мозга. Восстановление поврежденных в результате какого-либо заболевания или травмы почек почечных канальцев сводится к миграции этих стволовых клеток в область повреждения и их дифференцировке в необходимые клеточные элементы. Имеются указания и на то, что перепрограммированные стволовые клетки эпидермиса кожи приобретают фенотип почечных клеток, которые могут формировать почечные нефроны.

До последнего времени попытки стимуляции регенераторного процесса в почках не приводили к успеху. Но недавно появились сообщения, что регенерация почечных структур может быть существенно ускорена с помощью стволовых клеток костного мозга. Так, в экспериментах на мышах показано, что почка с ограниченным ишемическим некрозом может быть восстановлена за счет дифференцирующихся в эпителий канальцев стволовых клеток костного мозга. Таким образом, показания к применению гемопоэтических стволовых клеток и возможности этого применения могут расширяться и в области нефрологии.

Приведенные в данном разделе статьи материалы можно использовать на практическом занятии «Введение в общую гистологию», где обычно рассматриваются такие вопросы, как камбиальность тканей, стволовые и дифференцированные клетки, механизмы регенерации тканей, а также в теме «Эпителиальные ткани». Вторая возможность использования этого материала - практическое занятие «Мочевая система», а также лекция на аналогичную тему.

**Региональные стволовые клетки в соединительных тканях.** В главе 8 «Собственно соединительные ткани» собственного учебника [2] на стр. 269 приводятся сведения о костномозговой стволовой клетке стромальных механоцитов, иначе называемой мезенхимальной стволовой клеткой. Подчеркивается, что эта клетка отличается от костномозговой гемопоэтической стволовой клетки и дает при своем развитии все клетки дифферона фибробластов, остеобластов, хондробластов, а также адвентициальные клетки и клетки жировой ткани – адипоциты. Как известно, мезенхимальные клетки впервые в 1977 году описал российский советский ученый А.Я. Фриденштейн [3].

В разделе «Соединительные ткани со специальными свойствами» в цитированном ранее собственном учебнике [2] упоминается о белой жировой ткани как резервуаре региональных стволовых клеток. В лекционном материале в расширенном варианте обращается внимание студентов на обилие региональных стволовых клеток в белой жировой ткани (СКЖТ). Эти клетки были обнаружены М. Стасовым и соавторами (1999). Они не экспрессировали на своей поверхности кластеры дифференцировки CD-34 и CD-45, характерные для гемопоэтических стволовых клеток. Но проведенный иммуногистохимический анализ жировой ткани позволил Д.О. Трактуюеву и соавторам (2006) установить, что в белой жировой ткани CD-34<sup>+</sup>-клетки обнаруживаются в значительном количестве, при этом они равномерно распределены среди белых адипоцитов. Как известно, антиген дифференцировки CD-34 был впервые выявлен на полипотентных клетках-предшественниках гемопоэза (миелопоэза), и его считали маркером этих клеток. Однако в последующем этот антиген обнаружили и на других клетках: эмбриональных фибробластах, эндотелиоцитах, клетках нервной ткани. Установлено, что CD-34<sup>+</sup>-клетки жировой ткани способны дифференцироваться в эндотелиоциты, кардиомиоциты, гладкие миоциты, эпителиоциты, нейроны, клетки нейроглии, клетки костной, хрящевой тканей. В жировой ткани эти клетки участвуют в новообразовании белой жировой ткани. На стволовых клетках жировой ткани отсутствуют специфические маркеры, характерные для адипоцитов. В настоящее время стромальные стволовые клетки выделены из белой жировой ткани не только человека, но и собаки, кошки, свиньи, кролика, крысы. Все эти клетки хоть и отличаются по маркерам, но обладают способностью дифференцироваться в различные указанные выше виды клеток. СКЖТ легко, с низкой травматичностью и относительной безопасностью выделяются из жировой ткани и, обладая высокой пластичностью, являются весьма перспективными кандидатами для их аутологической трансплантации [4, 5].

Региональные стволовые клетки жировой ткани называют стромально-васкулярной фракцией жировой ткани, которая включает в себя:

1. Васкулярные (сосудистые) клетки: эндотелиальные, перicyты, гладкомышечные, циркулирующие клетки крови – эритроциты, моноциты, макрофаги, Т-лимфоциты, преадипоциты.

2. Фибробластоподобные клетки, которые располагаются вдоль капилляров. Именно их в соединительных тканях называют упомянутыми выше мультипотентными мезенхимальными, или стромальными СК.

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) жировой ткани обладают высокой пластичностью и способны превращаться в хондробласты, в последующем формируя хрящевую ткань, в остеобласты, образуя костную ткань, фибробласты рыхлой соединительной ткани и строму паренхиматозных органов. Они дают также адипоциты белой жировой ткани, гладкие миоциты гладкой мышечной ткани. Появились сведения, что они могут быть предшественниками кардиомиоцитов поперечнополосатой сердечной мышечной ткани, нейронов нервной ткани, гепатоцитов, основных клеток печени, а также эндотелиальных клеток, обеспечивают рост артериальных, венозных и лимфатических сосудов и т. д. [6]. Таким образом, эти сведения опровергают устоявшиеся представления о том, что только в пределах одного зародышевого листка возможны превращения одной клетки и ткани в другую. Однако представленные сведения должны быть тщательно проверены, тем более, что не все ученые принимают эту новую точку зрения.

Впервые представления о том, что во взрослом организме существует определенный запас для физиологической и репаративной регенерации соединительной ткани в виде так называемого мезенхимного резерва, высказал А.А. Максимов в первой половине XX века. Эту точку зрения подтвердил А.Я. Фриденштейн в 70-е годы прошлого века. Он описал подобные клетки в строме костного мозга и других кроветворных органов. В культуре ткани эти клетки давали колонии, состоящие из фибробластоподобных клеток. А.Я. Фриденштейн назвал их колониеобразующими единицами фибробластов (КОЕ-Ф). Эти клетки длительно самоподдерживались при пассировании, а при обратной трансплантации в организм дифференцировались в хрящевую и костную ткани и в других направлениях, создавая кроветворное микроокружение

В 90-е годы А. Каплан (1991) повторно описал эти клетки и предложил так называемую концепцию мезенхимальных стволовых клеток.

В настоящее время описаны следующие основные свойства мезенхимальных клеток:

1. Способность прилипать к пластику в стандартных условиях культивирования.

2. Наличие специфических поверхностных антигенов.

3. Способность дифференцироваться *in vitro* в остеобласты, хондробласты и адипоциты.

Способность мезенхимальных клеток приклеиваться к поверхности используемых в культивировании клеток пластиковых сосудов была открыта еще А.Я. Фриденштейном, а разработанная им впервые методика исследования мезенхимальных клеток применяется до сих пор. Кроме пластика, МСК обладают способностью приклеиваться к ряду белков внеклеточного матрикса, в том числе и продуцируемым ими самими: фибронектину, коллагену, ламинину.

Согласно второму требованию, на клетках, претендующих на роль мезенхимальных, должны присутствовать следующие антигены (минимальное требование):

- CD73 – экто-5-нуклеотидаза;

- CD90 (син. Thy-1) – член суперсемейства иммуноглобулинов;

CD105 – рецептор трансформирующего фактора роста.

Эти сведения о СКЖТ излагаются в специальной читаемой на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии ВГМУ лекции «Функциональная морфология белой и бурой жировой ткани. Взаимодействие их со скелетной мышечной тканью», а также в специально изданном учебном пособии «Гистофизиология жиросодержащих структур кожи» [7], где СКЖТ освещаются более подробно.

**Региональные стволовые клетки скелетных мышечных тканей.** При изучении темы «Мышечные ткани» студентам предлагаются новые сведения о стволовых клетках скелетной поперечнополосатой мышечной ткани. Сообщается, что в скелетной мышечной ткани выделяют 3 вида стволовых клеток:

1. Миосателлитоциты.

2. Клетки побочной популяции (side population cells), или SP-клетки.

3. Клетки дорзального участка аорты (мезангиобласты эмбриональной дорзальной аорты и их аналоги во взрослом организме – перициты).

Клетки-сателлиты являются предшественниками поперечнополосатых мышечных волокон и располагаются в углублениях плазмолеммы мышечного волокна под его базальной мембраной. В норме эти клетки находятся в состоянии покоя, но в период постнатального роста или при репаративной регенерации мышечного волокна

эти клетки претерпевают митотические деления и осуществляют увеличение мышечной массы или репарацию.

Как указывают Н.Д. Озернюк и О.В. Балан (2009), в скелетной мышечной ткани содержится два типа стволовых клеток. Первый из них – миосателлитоциты, обеспечивающие развитие этой ткани на ранних этапах онтогенеза, в то время как второй тип представлен мультипотентными стволовыми клетками, отвечающими за развитие, регенерацию и адаптацию мышечной ткани к физическим нагрузкам у взрослого организма. Если раньше считалось, что миосателлитоциты являются только миогенными предшественниками, то в настоящее время на животных показано, что они могут давать *in vitro* также клетки остеогенной и адипогенной линии. Для миосателлитоцитов основным признаком является наличие гена Pax7 и его продукта с аналогичным названием. Для них характерны также и другие признаки, свойственные СК.

Доля миосателлитных клеток с возрастом изменяется и различается в разных типах мышечных волокон и в разных мышцах. Самое высокое содержание этих клеток отмечается при рождении, у взрослых животных их количество в несколько раз ниже, и оно продолжает с возрастом снижаться и далее. Уменьшение мышечной массы с возрастом, как полагают, связано с изменением микроокружения миосателлитоцитов *in vivo* и, следовательно, со снижением потенций миосателлитоцитов [8].

Активацию покоящихся миосателлитоцитов вызывают физическая нагрузка, повреждение мышц, электростимуляция, мышечная дистрофия. При этом активированные клетки приступают к асимметричному делению. При нем одна клетка остается стволовой, а другая приступает к дифференцировке в миогенном направлении. Активация миосателлитных клеток не ограничивается их митозом только в месте действия на мышечное волокно активирующего фактора, а распространяется по всему мышечному волокну. В этом феномене скрывается механизм адаптации мышцы к физическим нагрузкам и ее суперкомпенсации при этом.

**Ниши миосателлитоцитов.** К микроокружению миосателлитоцитов относятся следующие структуры: 1) плазмолемма скелетного мышечного волокна; 2) базальная мембрана мышечного волокна; 3) рыхлая соединительная ткань эндомизия с ее тканевыми элементами и

особенно клетками; 5) гемокапилляры.

SP-клетки (от англ. side population – побочная, добавочная популяция) обнаружены в скелетной поперечнополосатой мышечной ткани человека в небольшом количестве. Они обнаружены также в костном мозге и так же, как и миосателлитоциты, принимают участие в регенерации скелетной мышечной ткани. Эти клетки экспрессируют маркеры CD45 и Sca-1 (stem cell antigen), характерные для гемопоэтических клеток. Они располагаются между мышечными волокнами и тесно связаны с кровеносными сосудами. Клетки SP-популяции способны дифференцироваться как в направлении волокон скелетной мышечной ткани, так и в направлении клеток форменных элементов крови. На их поверхности отсутствуют антигенные детерминанты, способные вызвать иммунный ответ, и в связи с этим в отличие от других взрослых СК при введении их реципиентам эти клетки не отторгаются. SP-клетки специфически взаимодействуют с ядерным красителем Hoechst 33342, связывающимся с ДНК. После окрашивания Hoechst 33342 SP-клетки могут быть выделены из ткани с помощью лазерного сортера.

В эксперименте 100 SP-клеток, полученных из скелетной мышечной ткани, полностью восстанавливают красный костный мозг у летально облученных мышей. С другой стороны, внутривенное введение SP-клеток мутантным мышам mdx (модель мышечной дистрофии Дюшенна) восстанавливает экспрессию дистрофина в скелетных мышцах этих мышей. У взрослых млекопитающих SP-клетки способны к миогенной дифференцировке *in vivo* и *in vitro* при сокультивировании с миобластами. Однако есть сведения, что *in vitro* SP-клетки не способны к дифференцировке в миогенном направлении, но при внутримышечном введении могут служить источниками миосателлитоцитов. Считают, что SP-клетки способны мигрировать из кровотока в мышечную ткань и вовлекаться в регенерацию поврежденной мышцы.

В качестве альтернативных клеток миогенеза в скелетной мышечной ткани указываются MDSC-клетки (клетки, выделенные из скелетной мышечной ткани взрослого организма), которые представляют собой неоднородную группу. Они имеют фенотип CD34<sup>+</sup>/Sca-1<sup>+</sup>, обладают высокой способностью к самообновлению и пролиферации. Эмбриональное происхождение и точная их локализация в мышечной ткани остаются не-

известными.

Имеются данные, что субпопуляция циркулирующих клеток крови, экспрессирующих известный маркер гемопоэтических клеток AC133, проходит миогенную дифференцировку *in vitro* (при совместном культивировании с миогенными клетками) или *in vivo* при внутримышечной трансплантации трансгенным мышам scid/mdx. После введения в организм животного часть AC133<sup>+</sup>-клеток локализовалась под базальной мембраной МВ и экспрессировала маркеры миосателлитоцитов М-кадгерин и Myf5. Поскольку AC133<sup>+</sup>-клетки можно легко выделить из крови, выполнить определенные манипуляции *in vitro* и доставить через систему кровообращения в организм, некоторые авторы считают возможным их применение в клеточной терапии мышечных дистрофий.

Среди других источников малодифференцированных мышечных клеток указывают мезоангиобласты эмбриональных сосудов (дорсальной аорты) и их аналоги во взрослом организме – перициты. Обнаружено, что мезоангиобласты способны заселять и восстанавливать поврежденную скелетную мышечную ткань у мышей с миодистрофией, а также у собак породы золотой ретривер с дистрофией, которая представляет собой достоверную модель мышечной дистрофии Дюшенна у человека. Внутриаартериальное введение мезоангиобластов собак дикого типа приводило к восстановлению экспрессии дистрофина и нормализации структуры мышечной ткани. В 2007 г. A. Dellavalle et al. сообщили о получении ассоциированных с сосудами стволовых клеток из микроциркуляторного русла скелетной мышцы человека. Эти интерстициальные клетки похожи на мезоангиобласты, располагающиеся в дорсальной аорте эмбриона. Однако в отличие от мезоангиобластов, они не экспрессируют эндотелиальные маркеры, но вместо этого характеризуются наличием маркеров перицитов, таких как щелочная фосфатаза. Представляет интерес то, что мезоангиобласты и перициты могут мигрировать через стенку сосуда, встраиваться в состав мышечной ткани, сохранять жизнедеятельность и способствовать регенерации. По мнению ряда авторов, эти свойства делают мезоангиобласты и перициты перспективными кандидатами для клеточной терапии у пациентов с мышечной дистрофией [9].

Изложенный в данном разделе материал может с успехом использоваться на лекции

«Функциональная морфология скелетной мышечной ткани», а также на практическом занятии по мышечным тканям.

**Резидентные региональные стволовые клетки поперечнополосатой сердечной мышечной ткани.** Длительное время существовало мнение, что в сердечной мышечной ткани СК в постнатальном онтогенезе отсутствуют и ее регенерация осуществляется только на внутриклеточном уровне. С этим связывали неспособность сердца полностью восстанавливаться в структурно-функциональном отношении после ишемического повреждения, например инфаркта миокарда. При инфаркте миокарда в нем наблюдаются некроз, воспалительная реакция, а некоторое время спустя по периферии зоны некроза присоединяются явления апоптоза, в результате чего площадь гибели кардиомиоцитов расширяется.

Однако еще П.П. Румянцев (1982) указывал, что вопреки укоренившемуся представлению о невозможности регенерации миокарда на клеточном уровне, у всех разновидностей миокардиоцитов имеются камбиальные клетки. В настоящее время твердо установлено, что сердце содержит недифференцированные кардиомиоциты (резидентные, т.е. оседлые региональные стволовые клетки миокарда, РСКМ), способные к митотическому делению и, следовательно, к регенерации на клеточном уровне. Совершенно очевидно, что можно считать установленным фактом наличие в миокарде популяции резидентных стволовых клеток, которые могут участвовать в регенерации миокарда при его повреждении.

Как известно, в эмбриогенезе кардиомиоциты образуются из миоэпикардальной пластинки, являющейся частью висцерального листка спланхнотома. Эти клетки характеризуются наличием транскрипционного фактора *islet-1*. Ранее считалось, что эти клетки участвуют в морфогенезе миокарда только в эмбриональном периоде и на ранних этапах постнатального онтогенеза, а затем быстро теряют свой пролиферативный потенциал. Однако в последние десятилетия появились доказательства того факта, что эти клетки персистируют и могут участвовать в регенерации миокарда и у взрослых людей. Они же могут участвовать в гипертрофии миокарда при гипертрофической кардиомиопатии. Так, в гипертрофированных кардиомиоцитах (КМЦ) при обструктивной форме гипертрофической кардиомиопатии одновременно выявляются признаки усиления как пролиферативной, так и син-

тетической активности КМЦ, а также атрофии, миолиза и нарушения пространственной ориентации миофибрилл. Одновременно происходит гиперплазия клеток-предшественниц и гипертрофия зрелых КМЦ. При этом пролиферативная активность зрелых КМЦ возрастает при увеличении толщины межжелудочковой перегородки и фиброза миокарда. Количество мелких незрелых пролиферативно активных КМЦ и клеток-предшественниц КМЦ увеличивается с усилением степени гипертрофии КМЦ и фиброза миокарда межжелудочковой перегородки [10].

Предполагаются, что РСКМ имеют двойное происхождение. Часть клеток является собственно резидентными клетками миокарда, тогда как другая часть мигрирует в миокард из костного мозга. Как полагают П. Анварзе и соавт. (2002, 2006), резидентные клетки миокарда являются мультипотентными клетками, способными дифференцироваться не только в кардиомиоциты, но также в гладкие миоциты, фибробласты и эндотелиоциты.

Для резидентных СК сердечной мышцы характерны мультипотентность, способность к пролиферации и поддержанию численности. У разных видов животных и человека, в зависимости от способа выделения, культивирования и экспрессии маркеров, описывают три популяции резидентных СК сердца. Различают: SP-клеточную популяцию, *c-kit* позитивные клетки (*c-kit* является рецептором фактора стволовых клеток – SCF) и кардиомиобласты, экспрессирующие *islet-1*.

SP-клеточная популяция – клетки побочной популяции («side population» cells), или SP-клетки, – описаны выше в контексте их роли в регенерации поперечнополосатой скелетной мышечной ткани. Оказалось, что эти клетки по своему антигенному составу очень похожи на эмбриональные стволовые клетки миокарда и принимают участие в его регенерации. Они экспрессируют маркеры CD45 и stem cell antigen (Sca-1), характерные для гемопоэтических клеток. В сердечной мышечной ткани клетки SP-популяции располагаются в нишах и тесно связаны с кровеносными сосудами. Они обладают как миогенным, так гемопоэтическим потенциалом.

**Ниши РСКМ.** Ниши РСКМ защищены от неблагоприятных факторов (в частности, гемодинамических нагрузок) местоположением и находятся в верхушке сердца и правом предсердии.

Здесь эти клетки тесно связаны с кокоммитированными клетками-предшественницами, а также со стромальными клетками ниши и находятся под регуляторным и контролирующим влиянием факторов роста и цитокинов. Связь между стволовыми клетками миокарда и клетками стромы осуществляется через межклеточные адгезионные контакты с помощью молекул клеточной адгезии E- и N- кадгеринов. Имеются также щелевые контакты с помощью коннексинов 43 и 45. В одной и той же нише могут находиться клетки, дифференцирующиеся в разных направлениях: эндотелиоцитарном, гладкомышечном, кардиомиоцитарном и фибробластическом [11].

Активация резидентных стволовых клеток миокарда может происходить при инфаркте миокарда, гипертрофической кардиомиопатии, стенозе аорты, хронической сердечной недостаточности. В этом случае клетки начинают митотически делиться, причем одна клетка, покидая нишу, превращается в прегениторные клетки, а затем в коммитированные предшественники и далее в зрелые кардиомиоциты. Поскольку в одной и той же нише могут находиться клетки, способные дифференцироваться в направлении не только кардиомиоцитов, но также эндотелиоцитов и фибробластов, в поврежденной зоне миокарда способны формироваться полноценные, хорошо васкуляризованные участки миокарда. Таким образом, ниша обеспечивает регенерацию сердца не только на тканевом, но и органном уровнях. Вторая клетка-потомок резидентной стволовой клетки миокарда остается в нише до следующей экстренной ситуации в качестве резидентной стволовой клетки [11].

При остром инфаркте миокарда митотический индекс стволовых клеток миокарда превышает уровень митотической активности стволовых клеток нормального миокарда в 29 раз, а при хронической сердечной недостаточности (ХСН), развивающейся после перенесенного инфаркта миокарда, – в 14 раз. При этом пролиферация и дифференцировка стволовых клеток миокарда осуществляются по периферии зоны инфаркта и отсутствуют в зоне некроза, однако есть наблюдения, когда эти клетки мигрируют в эту зону и принимают участие в регенераторном процессе. Наряду с увеличением митотически делящихся клеток увеличивается количество стареющих кардиомиоцитов. Их число в контроле составляет 10%, при инфаркте 18% и 40% при ХСН. Стареющие кардиомиоциты имеют укороченные теломеры и сниженную активность теломеразы. Одно-

временно увеличивается количество апоптотных клеток. Эти данные, приведенные К.А. Рубиной и соавт. (2009), свидетельствуют об активации стволовых клеток в нишах и вступлении их в процессы размножения и дифференцировки.

Установлено, что резидентные стволовые клетки миокарда встречаются у пациентов, миокард которых характеризуется повышенной объемной плотностью соединительной ткани, гипертрофией зрелых кардиомиоцитов, умеренной степенью утраты в них миофибрилл, а также накоплением в кардиомиоцитах маркера сердечной недостаточности – предсердного натрийуретического пептида (Т.В. Сухарева и соавт., 2012). Блокирование симпатической нервной системы и компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) ведет к уменьшению количества митозов кардиомиоцитов и уменьшению скорости гипертрофии миокарда, что может быть использовано при лечении пациентов с гипертрофической кардиомиопатией, особенно при ее obstructивной форме.

При гистологическом исследовании правого желудочка у пациентов с тетрадой Фалло c-kit-позитивные резистентные стволовые клетки миокарда правого желудочка выявлены у 17,4% пациентов. При этом у них обнаружено до 45 резидентных стволовых клеток миокарда на 1 млн кардиомиоцитов. Показатель был выше у пациентов с высоким содержанием в миокарде правого желудочка КМЦ небольших размеров (меньше 10 мкм) и КМЦ с незавершенным развитием миофибрилл (Сухарева Т.В. и соавт., 2012 ).

Существует также точка зрения, что регенерация миокарда при его ишемическом повреждении происходит за счет циркулирующих в крови прогениторных клеток, которые выходят из костного мозга в ответ на повреждение миокарда и мигрируют в зону ишемии.

В 2014 году было установлено, что в регенерации миокарда участвуют коронарные артерии, конкретнее – эндотелий коронарных артерий. Оказывается, эндотелиоциты коронарных артерий могут функционировать как стволовые клетки сердца, т.е. в процессе дифференцировки (трансдифференцировки) превращаться в кардиомиоциты сердца.

Изложенный в данном разделе материал может быть использован в лекционном материале (лекция «Мышечные ткани»), а также на практических занятиях «Мышечные ткани» и «Сердечно-сосудистая система».

**Регионарные стволовые клетки нервной ткани.** С начала прошлого века на основании нейростологических работ одного из основоположников нейронной теории, лауреата Нобелевской премии испанского нейростолога Сантьяго Рамона-и-Кахала сформировалось и укрепилось представление о том, что нервная ткань является стабильной тканью, в которой только глиальные клетки способны к митотическому делению. Нервные клетки (нейроны) и нервные отростки в ЦНС не делятся и после повреждения замещаются плотным глиальным рубцом, который образуется в результате митотической активности астроцитов, которые и продуцируют этот рубец.

Однако данные последних лет свидетельствуют в пользу существования в ЦНС регионарных нейральных прогениторных клеток. Оказалось, что в центральной нервной системе имеются особые зоны, в которых содержатся, размножаются и из которых расселяются в другие участки ЦНС стволовые клетки и их потомки, где они участвуют в регенераторном процессе. Эти зоны в головном мозге следующие: субвентрикулярная зона боковых желудочков; зубчатая извилина гиппокампа; обонятельная луковица; обонятельный эпителий. В спинном мозге такой зоной является субэпендимальный слой. Нейральные регионарные стволовые представляют собой мультипотентные клетки, способные дифференцироваться в любую зрелую клетку нервной системы: нейроны и различные виды макроглии: астроциты, олигодендроглиocyты и в эпендимоглиocyты.

Пальма первенства обоснования представлений о постоянном образовании и дифференцировке нервных клеток в центральной нервной системе принадлежит американскому ученому Д. Альтману с соавторами (см. обзоры Александрова М.А., Подгорный, 2009; Викторов Н.В., 2001) [12, 13]. Эти авторы выявили митотически делящиеся клетки вначале в субэпендимном слое головного мозга, а затем в гиппокампе и обонятельных луковицах с помощью метода гистоавтордиографии. В последующем ученые С. Вейс и Б. Рейнольдс (1992) предложили метод выделения стволовых клеток головного мозга и исследовали их в культуре ткани головного мозга.

#### **Ниши нейрональных стволовых клеток.**

Во взрослом мозге СК располагаются в нишах. Как указывают М.А. Александрова и О.В. Под-

горный [12], ниша является сложно организованным образованием. В суправентрикулярной зоне в ее состав входят следующие клетки: 1) нейробласты (А – тип клеток); 2) астроцитоподобные клетки (тип В); 3) прогениторные клетки астроцитоподобных клеток (тип С); 4) другие глиальные клетки; 5) эпендимные глиocyты; 6) микроглия; 7) клетки кровеносных капилляров и более крупных сосудов. Ниши суправентрикулярной зоны располагаются мозаично, причем стволовые клетки в них дифференцируются в различные типы нейронов.

В нишах суправентрикулярной зоны экспрессируются специфические рецепторы (Notch) и их лиганды. Важную роль в межклеточных взаимодействиях в этих нишах играют астроциты, которые как воспринимают внешние по отношению к нише воздействия, так и регулируют состояние ниш. Регуляторную роль в нише играют также клетки микроглии.

Содержание стволовых клеток в нишах составляет примерно 1%, они совершают редкие деления, в то время как их потомки (транзиторные клетки) делятся достаточно часто. Во временном отношении различаются и митотические циклы стволовых и транзиторных клеток: у стволовых клеток его продолжительность составляет несколько суток, тогда как у транзиторных – примерно 1-2 часа. Образующиеся прогениторные клетки мигрируют по роstralному тракту (лат. *rostrum* - клюв). В работе Snapyan et al. (2009) показано, что эти клетки движутся вдоль кровеносных сосудов, расположенных по направлению потока, вероятно, вследствие синтеза васкулярным эндотелием некоторых сигнальных молекул, таких как BDNF [(англ. Brain-derived neurotrophic factor – нейротрофический (нейротропный) фактор мозга) – белок человека, кодируемый геном BDNF]. BDNF относится к нейротрофинам, веществам, стимулирующим и поддерживающим развитие нейронов. Миграция носит тангенциальный характер на всем протяжении пути. Достигнув середины обонятельной луковицы, цепочки вновь образованных нейронов распадаются, и клетки начинают радиальную миграцию. Так они достигают верхних клеточных слоев, где происходит их окончательная дифференцировка. Рассеивание цепочек нейробластов инициируется протеинами рилином и тенаксином, а процесс радиальной миграции контролируется тенаксином R. В образовании цепочек важную роль играют  $\beta$ -1 интегрин и ламинины.



Большинство мигрировавших клеток (75-99%) в результате дифференциации превращаются в ГАМК-ергические гранулярные интернейроны. Некоторое количество этих клеток (1-25%) превращается в перигломерулярные интернейроны, которые располагаются между клубочками обонятельной луковицы. Для них характерна экспрессия как гамма-аминомасляной кислоты, так и тирозингидроксилазы.

Большое количество новых нейронов отмирает вскоре после окончания миграции. В долгосрочной перспективе около 50% оставшихся клеток также отмирают, даже после успешного приживания в гранулярном и перигломерулярном слоях и установления связей с другими клетками. Считается, что судьба новых клеток зависит от характера образованных ими связей, и их отсев служит механизмом поддержания постоянства численности нейронов в обонятельной луковице.

Установлено, что СК нервной ткани весьма чувствительны к различным факторам. Так, при сильном стрессе происходит подавление их пролиферативной активности, тогда как при таких ситуациях, как ишемическое повреждение мозга, эпилептический приступ и травма мозга происходит усиление митотической активности стволовых клеток. Существует предположение, что СК гиппокампа играют важную роль в повышении когнитивных функций, причем стимулирующими факторами при этом являются обучение, обогащенная информацией среда обитания, повышенная двигательная активность, которые повышают продукцию нейронов в зубчатой извилине гиппокампа. Как известно, гиппокамп играет важную роль в обучении, памяти и мыслительной деятельности.

В гиппокампе образование новых нейронов осуществляется в субгранулярной зоне зубчатой фасции. Область генерации новых нейронов представлена локальными структурированными нишами, которые содержат астроцитную и радиальную нейроглию, клетки-прекурсоры и малодифференцированные нейробласты. Важным признаком ниш является контакт астроцитов с помощью отростков с кровеносными капиллярами. Дифференцирующиеся нейроны мигрируют и направляют свои аксоны в поле СА-3 гиппокампа и, формируя синаптические связи, включаются в интегративную функцию мозга.

Нарушение межклеточных взаимодействий и регуляции клеток ниш может нарушать

процессы развития ЦНС, а также приводить к ряду патологических процессов в ЦНС взрослых индивидуумов. Предполагается, что ниши нейрональных СК могут дисперсно располагаться и в других участках ЦНС.

Большой интерес представляют исследования по культивированию нейрональных СК и их трансплантации. В культуре нейрональных СК содержатся сами СК, а также прогениторы, нейро- и глиобласты. При пересадке культивированных СК (аллотрансплантация) в постнатальный мозг и взрослый мозг они способны переживать в течение 15 мес, а при ксенотрансплантации СК человека в мозг крыс – несколько месяцев. При этом трансплантированные клетки способны мигрировать в мозге реципиента, устанавливать синаптические связи и дифференцироваться в основные фенотипы клеток ЦНС. При этом миграция культуральных нейрональных СК предпочтительно осуществляется вдоль волокон нервных трактов, макрососудов и сосудов микроциркуляторного русла. В регуляции механизмов направленной регуляции миграции СК в ЦНС реципиента участвуют ростовые, нейротрофические и провоспалительные факторы, которые находятся в участке травмы [12].

В неповрежденном мозге трансплантированные нейрональные СК мигрируют на меньшее расстояние, чем травмированном, что объясняется появлением в последнем новых регуляторных молекул. Способность СК мигрировать в области поражения мозга показана при инсультах, множественных склерозах, нейродегенерации. При этом трансплантация культивированных нейрональных СК на моделях ишемии и травмы мозга у животных-реципиентов показала улучшение когнитивных свойств и приводила к увеличению продолжительности жизни (на моделях генетических метаболических болезней). Восстановление функций ЦНС возможно благодаря интеграции трансплантированных СК в функции мозга и стимуляции в нем компенсаторно-приспособительных процессов в патологически измененных нейронах реципиента. Эта стимуляция и компенсация может быть обеспечена за счет выделяемых трансплантированными СК различных стимулирующих факторов (IGF, VEGF, TGFβ1, GDNF, BDNF, NT3, NGF и др.). Все эти и другие факторы, с одной стороны, стимулируют собственный регенераторный ответ ЦНС реципиента, а с другой – предотвращают дегенеративные изменения в ней нейронов (А.В. Александрова и др., 2009).

Важное место в исследованиях по трансплантации культуральных нейрональных СК занимают те из них, в которых разрабатываются методы по лечению болезни Паркинсона. И хотя моделирование болезни Паркинсона на животных не позволяет учесть все те многочисленные моменты патогенеза этой болезни у человека, тем не менее на этих моделях показана возможность замещения нейрональными СК дофаминергических нейронов, развивающимися из СК.

## Заключение

Таким образом, проводимые на животных исследования в области трансплантации культивированных нейрональных СК вселяют надежду в возможность использования для лечения различных форм патологии ЦНС с помощью культур человеческих СК.

Изложенный в данном разделе материал статьи может быть использован, во-первых, на практическом занятии «Нервная ткань», во-вторых, на практических занятиях «Введение в частную гистологию» и на цикле практических занятий «Нервная система».

## Литература

1. Саркисов, Д. С. Почки / Д. С. Саркисов // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций / под ред. Д. С. Саркисова. – М. : Медицина, 1987. – С. 306–310.
2. Мяделец, О. Д. Гистология, цитология и эмбриология человека : в 2 ч. Ч. 1 : Цитология, эмбриология и общая гистология / О. Д. Мяделец. – Витебск : ВГМУ, 2014. – 439 с.
3. Чертков, И. Л. Клеточные основы кроветворения / И. Л. Чертков, А. Я. Фриденштейн. – М. : Медицина, 1977. – 274 с.
4. Стромальные клетки жировой ткани – пластический тип

клеток, обладающих высоким терапевтическим потенциалом / Д. О. Трактует [и др.] // Цитология. – 2006. – Т. 48, № 2. – С. 83–94.

5. Парфенова, Е. В. Стромальные клетки жировой ткани: молекулярная характеристика, антигенные свойства и перспективы использования для терапии сердечно-сосудистых заболеваний / Е. В. Парфенова, Д. О. Трактует, В. А. Ткачук // Биология стволовых клеток и клеточные технологии / под ред. М. А. Пальцева. – М. : Медицина, 2009. – Т. 2. – С. 4–35.
6. Паюшина, О. В. Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки: характеристика, потенциал к дифференцировке и перспективы клинического использования / О. В. Паюшина, В. И. Старостин, Н. Г. Хрущев // Биология стволовых клеток и клеточные технологии / под ред. М. А. Пальцева. – М. : Медицина, 2009. – Т. 2. – С. 100–123.
7. Мяделец, О. Д. Гистофизиология жиросодержащих структур кожи : учеб. пособие для студентов учреждений высш. образования по специальности «Лечебное дело» / О. Д. Мяделец, И. С. Соболевская, В. О. Мяделец. – Витебск : ВГМУ, 2015. – 290 с.
8. Стволовые клетки сердца / К. А. Рубина [и др.] // Биология стволовых клеток и клеточные технологии / под ред. М. А. Пальцева. – М. : Медицина, 2009. – Т. 2. – С. 75–99.
9. Одинцова, И. А. Миосателлитциты – камбиальный резерв поперечнополосатой мышечной ткани / И. А. Одинцова, М. Н. Чепурненко, А. С. Комарова // Гены и клетки. – 2014. – Т. 9, № 1. – С. 6–14.
10. Чудиновских, Ю. А. Особенности морфологии и патогенеза гипертрофической кардиомиопатии / Ю. А. Чудиновских, М. В. Еремеева, Т. В. Сукачева // Кардиология. – 2011. – № 2. – С. 81–88.
11. Озернюк, Н. Д. Биология сателлитных клеток мышц и механизмы восстановления мышечной системы / Н. Д. Озернюк, О. В. Балан // Биология стволовых клеток и клеточные технологии / под ред. М. А. Пальцева. – М. : Медицина, 2009. – Т. 2. – С. 36–52.
12. Александрова, М. А. Нейральные стволовые клетки / М. А. Александрова, О. В. Подгорный // Биология стволовых клеток и клеточные технологии / под ред. М. А. Пальцева. – М. : Медицина, 2009. – Т. 2. – С. 163–189.
13. Виктор, И. В. Стволовые клетки мозга млекопитающих: биология стволовых клеток in vitro in vivo / И. В. Виктор // Изв. АН. Сер. биол. – 2001. – № 6. – С. 646–655.

Поступила 07.02.2018 г.

Принята в печать 29.03.2018 г.

## References

1. Sarkisov DS. Kidneys. V: Sarkisov DS, red. Strukturnye osnovy adaptatsii i kompensatsii narushennykh funktsii. Moscow, RF: Meditsina; 1987. P. 306-10. (In Russ.)
2. Myadelets OD. Human histology, Cytology and embryology: v 2 ch. Ch 1: Tsitologiya, embriologiya i obshchaia gistologiya. Vitebsk, RB: VGMU; 2014. 439 p. (In Russ.)
3. Chertkov IL, Fridenshteyn AY. Cellular basis of hematopoiesis. Moscow, RF: Meditsina; 1977. 274 p. (In Russ.)
4. Traktuev DO, Parfenova EV, Tkachuk VA, March KL. Stromal cells of adipose tissue-a plastic type of cells with a high therapeutic potential. Tsitologiya. 2006;48(2):83-94. (In Russ.)

5. Parfenova EV, Traktuev DO, Tkachuk VA. Adipose tissue stromal cells: molecular characteristics, antigenic properties and prospects for use in the treatment of cardiovascular diseases. V: Pal'tsev MA, red. Biologiya stvolovykh kletok i kletochnye tekhnologii. Moscow, RF: Meditsina; 2009. T 2. P. 4-35. (In Russ.)
6. Payushina OV, Starostin VI, Khrushchov NG. Multipotent mesenchymal stromal cells: characteristics, potencies to differentiation and prospects of clinical use. V: Pal'tsev MA, red. Biologiya stvolovykh kletok i kletochnye tekhnologii. Moscow, RF: Meditsina; 2009. T 2. P. 100-23. (In Russ.)
7. Myadelets OD, Sobolevskaya IS, Myadelets VO. Histophysiology fat-containing structures of the skin: ucheb posobie dlia studentov uchrezhdenii vyssh obrazovaniia po spetsial'nosti «Lechebnoe delo». Vitebsk, RB: VGMU; 2015.

- 290 p. (In Russ.)
8. Rubina KA, Akchurin RS, Tkachuk VA, Parfenova EV. Heart stem cells. V: Pal'tsev MA, red. *Biologiya stvolovykh kletok i kletochnye tekhnologii*. Moscow, RF: Meditsina; 2009. T 2. P. 75-99. (In Russ.)
  9. Odintsova IA, Chepurnenko MN, Komarova AS. Miosatellitotsita – a cambial reserve of cross-striped muscular tissue. *Geny Kletki*. 2014;9(1):6-14. (In Russ.)
  10. Chudinovskikh YuA, Ereemeeva MV, Sukacheva TV. Peculiarities of morphology and pathogenesis of hypertrophic cardiomyopathy. *Kardiologiya*. 2011;(2):81-8. (In Russ.)
  11. Ozernyuk ND, Balan OV. Biology of satellite cells and muscle repair mechanisms of the muscular system. V: Pal'tsev MA, red. *Biologiya stvolovykh kletok i kletochnye tekhnologii*. Moscow, RF: Meditsina; 2009. T 2. P. 36-52. (In Russ.)
  12. Aleksandrova MA, Podgornyy OV. Neural stem cells. V: Pal'tsev MA, red. *Biologiya stvolovykh kletok i kletochnye tekhnologii*. Moscow, RF: Meditsina; 2009. T 2. P. 163-89. (In Russ.)
  13. Viktorov IV. Mammalian brain stem cells: stem cell biology in vitro in vivo. *Izv AN Ser Biol*. 2001;(6):646-55. (In Russ.)

Submitted 07.02.2018

Accepted 29.03.2018

#### **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.