

of acute kidney injury in critically ill children with septic shock // *Crit. Care. Med.* — 2008. — Vol. 36(4). — P. 1297–303.

106. Xu S.Y. et al. Serum measurements of human neutrophil lipocalin (HNL) discriminate between acute bacterial and viral infections // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* — 1995. — Vol. 55. — P. 125–131.
107. Yan L. et al. The high molecular weight urinary matrix metalloproteinase (MMP) activity is a complex of gelatinase B/MMP-9 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). Modulation of MMP-9 activity by NGAL // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. — P. 37258–37265.
108. Yan Q.W., Yang Q., Mody N. et al. The adipokine lipocalin 2 is regulated by obesity and promotes insulin resistance // *Diabetes.* — 2007. — Vol. 56(10). — P. 2533–40.
109. Yang J., Bielenberg D.R., Rodig S.J. et al. Lipocalin 2 promotes breast cancer progression // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2009. — Vol. 106(10). — P. 3913–8.
110. Yang J., Moses M.A. Lipocalin 2: a multifaceted modulator of human cancer // *Cell. Cycle.* — 2009. — Vol. 8(15). — P. 2347–52.
111. Yang Y.H., He X.J., Chen S.R., Wang L. et al. Changes of serum and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in type-2 diabetic patients with nephropathy: one year observational follow-up study // *Endocrine.* — 2009. — Vol. 36(1). — P. 45–51.
112. Yegenaga I., Hoste E., Van Biesen W. et al. Clinical characteristics of patients developing ARF due to sepsis / systemic inflammatory response syndrome: results of a prospective study // *Am. J. Kidney Dis.* — 2004. — Vol. 43. — P. 817–824.
113. Yilmaz A., Sevketoglu E., Gedikbasi A. et al. Early prediction of urinary tract infection with urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin // *Pediatr. Nephrol.* — 2009. — Vol. 24(12). — P. 2387–92.
114. Zanardo G., Michielon P., Paccagnella A. et al. Acute renal failure in the patient undergoing cardiac operation // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 1994. — Vol. 107. — P. 1489–1495.
115. Zhang J., Wu Y., Zhang Y., Leroith D. et al. The role of lipocalin 2 in the regulation of inflammation in adipocytes and macrophages // *Mol. Endocrinol.* — 2008. — Vol. 22(6). — P. 1416–26.
116. Zhang X.F., Zhang Y., Zhang X.H. et al. Clinical significance of Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) expression in primary rectal cancer // *BMC Cancer.* — 2009. — May 6. — Vol. 9. — P. 134.

NGAL — “РЕНАЛЬНЫЙ ТРОПОНИН”: РАННИЙ МАРКЕР ГОСТРОГО ПОШКОЖДЕНИЯ НИРОК

V.V. Velkov

Огляд щодо застосування нового біомаркера NGAL (ліпокалін 2) в клінічній лабораторній діагностиці для раннього виявлення розвитку гострої ниркової недостатності, особливо після кардіохірургії із застосуванням апарату штучного кровообігу.

NGAL — THE RENAL TROPONIN: THE EARLY MARKER OF THE ACUTE KIDNEY INJURY

V.V. Velkov

The review dealing with the usage of NGAL in clinic laboratory diagnostics for the early detection of the development of acute kidney injury, especially after cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass.

УДК 616.155.392

В.Т. Морозова

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В ГЕМАТОЛОГИИ

Российская медицинская академия
последипломного образования, кафедра
клинической лабораторной диагностики, г. Москва

Вместо введения

О существовании стволовых клеток (СК) известно давно, но реальная возможность их изучения появилась в начале прошлого века. Интерес, который они вызывают у ученых, объясняется возможностями, которые открываются в случае успешного их использования в терапии многих заболеваний, в том числе лейкозов. Стволовая (родоначальная) клетка (СК), очевидно, существует у всех тканей и у каждого вида клеток.

СК, как родоначальная клетка, проходя разные периоды (этапы) дифференцировки, имеет продолжительный путь развития от зародышевых тканей до конечной стадии — зрелых структурно и функционально оформленных клеточных элементов. Очевидно, переход из одного периода дифференцировки клетки в другой знаменуется “новой” СК. Следовательно, на разных стадиях развития тканей имеются СК для данного этапа их развития и соответствующие факторы, обеспечивающие их дифференцировку (переход в следующую формацию). Переход осуществляется плавно — из одной клеточной формации в другую. Эти формации на первых этапах развития не имеют окончательно сформированной морфологической, химической и антигенной структуры, но их “законченные” формы с полным антигенным составом создают специфическую кооперацию клеток (паренхиму органов). Это терминальные элементы — конечные “рабочие” структуры, выполняющие определенные функции.

Так, клетки мезодермального зародышевого листка являются предшественниками клеток мезенхимы. В свою очередь клетки мезенхимы служат стволовыми клетками для клеток кровяной, соединительной, костной, хрящевой тканей.

Следовательно, каждая последующая клеточная формация является продолжением развития предыдущей, отличаясь от нее гетерогенностью СК, дальнейшее развитие которых создает свой клеточный вид. СК гемопоэза находятся в кост-

ном мозге, СК мезенхимы — в рыхлой соединительной ткани [16], которая, возможно, и поставляет клетки-предшественники для СК следующего этапа развития ткани.

Патологию стволовых кроветворных клеток тесно связывают с возникновением лейкозов. О происхождении лейкозов (опухолей кроветворных органов) существуют различные гипотезы, в какой-то мере имеющие клиническое подтверждение. Все гипотезы сходятся на важной роли стволовых клеток в становлении лейкозов.

То кроветворение, которое имеет место в норме и при лейкозах — это конечный этап деятельности костного мозга. На каком этапе длительного пути клеточной дифференцировки происходит сбой в развитии СК до сих пор остается не ясным. Но очевидно, что факторами риска в патогенезе лейкозогенеза могут быть химические и инфекционные агенты, лучевая радиация, патология иммунной системы, вакцинация, генетическая предрасположенность, старение организма, сопровождающееся гормональной перестройкой и ослаблением функций иммунной системы.

Стволовые кроветворные клетки (СКК) кроветворных органов требуют для своего развития специальных условий — близость сосудов, контакт с соединительной тканью и свое место в костном мозге — нишу, в которой они контактируют с клетками костной ткани (эндоста) [30]. Эти элементы как микроокружение кроветворных клеток определяют их развитие, участвуя во вводе СКК в митоз. Дирижируют этим процессом, по-видимому, гемопоэтические факторы элементов микроокружения.

Стволовые клетки

Различают эмбриональные и соматические СК. **Эмбриональные СК (ЭСК)** возникают в первые 2–4 дни развития плода и обладают тотипотентной способностью, а к 5–7 дню приобретают плюрипотентные свойства, позволяющие им образовывать любые ткани и клетки организма, но не целый орган. Функционируют ЭСК в период развития эмбриона [7]. ЭСК обладают большими потенциями и могут дифференцироваться в мезодермальные клеточные типы при создании соответствующего микроокружения [32]. Соматические стволовые клетки (ССК) имеют мультипотентные свойства. К ним относятся СК костного мозга. ССК могут трансформироваться преимущественно в клетки генетически заданного типа. Богатым источником СК является пуло-

винная кровь, плацента, пульпа молочных зубов [9]. СК обнаружены также в жировой клетчатке, хрящах и других тканях.

Имеются данные, что определенное количество СКК, закладывается в период эмбрионального развития плода. Содержание СКК в КМ невелико — оно составляет несколько десятых долей процента от общего числа миелокариоцитов. В норме в постнатальном периоде основная масса СКК (95%) находится в стадии G₀ клеточного цикла. Это представление о СКК плохо согласуется с клиническими данными: в нормальных условиях при стабильных гематологических показателях потребность клеток гемопоэза необычайно велика и обновление происходит в режиме постоянной репопуляции. Количество СКК еще больше увеличивается при регенерации костного мозга после лучевого повреждения или действия цитостатических препаратов, кровопотери, острого гемолиза, при гипоксии.

Ткани плода, особенно в раннем периоде гестации содержат большое количество СК, обладающих высоким пролиферативным потенциалом и коммитированных к определенной линии дифференцировки. На протяжении постнатального онтогенеза пул СК сокращается, а также сокращается их дифференцировочная потенция [19].

СКК закладываются в онтогенезе и отличаются гетерогенностью популяции. Выделяют субпопуляцию клеток, инициирующую долговременный рост культуры клеток костного мозга (long-term subset.), способных к самообновлению на протяжении всей жизни организма, и субпопуляцию клеток (short-term subset.), самообновление которых может происходить в ограниченном периоде времени (8 недель). Все самообновляющиеся ткани взрослого организма содержат СК, количество которых убывает с возрастом [22].

Как альтернатива “самообновлению на протяжении всей жизни организма” была высказана идея о существовании предшественников СКК с высоким, но лимитированным пролиферативным потенциалом [14].

По другой версии речь может идти о клетках более ранних формаций — мезенхимальных, с меньшей специализацией и меньшей специфичностью их антигенов. Место локализации этих клеток в организме — рыхлая соединительная ткань [10, 11, 16].

Для каждой ткани существуют свои родоначальные “камбиальные” клетки, которые отличаются степенью пролиферативной активности и специализации, т.е. клетки каждой ткани структурно специализированы для выполнения одной или нескольких функций [15], например как клетки пищеварительной системы, печени, почек и т.д.

Ведется поиск прямых подтверждений функции костного мозга, как дома для гетерогенных популяций не гематологических СК (эндотелия, скелетных мышц или нервной ткани). Ранний эмбриогенез наиболее активный период миграции СК. С началом развития органов СК мигрируют к местам, где они используются для новых тканей и органов, где они живут как популяция для самовосстанавливающихся клеток. Таким образом, роль СК во взрослом состоянии ограничивается поддержанием правильного круговорота в органах или тканях [32]. Костный мозг — это привилегированное место для циркулирующих СК и в том числе для тех, которые уже дифференцировались и “привязаны” к определенным тканям [31].

Процесс пролиферации и дифференцировки тесно связан со структурной организацией тканей. Созревание клеток происходит в морфофункциональной зоне или так называемом микроокружении. В митоз вступают не все СК одновременно, а часть. Затем они меняются, обеспечивая физиологическую регенерацию [24].

Формирование зародышевых листков завершается образованием эктодермы, энтодермы, мезодермы, из которых происходят все ткани организма. Большинство эпителиальных тканей развивается из эктодермы, в том числе нервная ткань, и энтодермы. Мышечная ткань почти целиком происходит из мезодермы.

Соединительная и кроветворная ткани формируются из мезенхимы, производной мезодермы (рис. 1).

На разном уровне развития СК может быть родоначальной несколько видов клеток кроветворной ткани, соединительной или костной, хрящевой тканей, или всех “механоцитов”, иметь своих “предков” — предшественников, поскольку эти клеточные элементы — производные мезенхимы.

Гемопоз — постоянное образование клеточных клонов (репопуляция или воспроизводство кроветворных элементов). Гемопоз характеризуется неоднородностью клеточного состава как по виду клеток, их функций, морфологии, продолжительности жизни, так и по месту пребывания (“прописки”) клеток в организме.

Основные законы, по которым осуществляется кроветворение:

- поддержание необходимой клеточной массы кроветворных органов, в основе которой лежит воспроизводство кроветворных клеток;
- поддержание равновесия процессов регенерации в костном мозге и дегенеративных про-

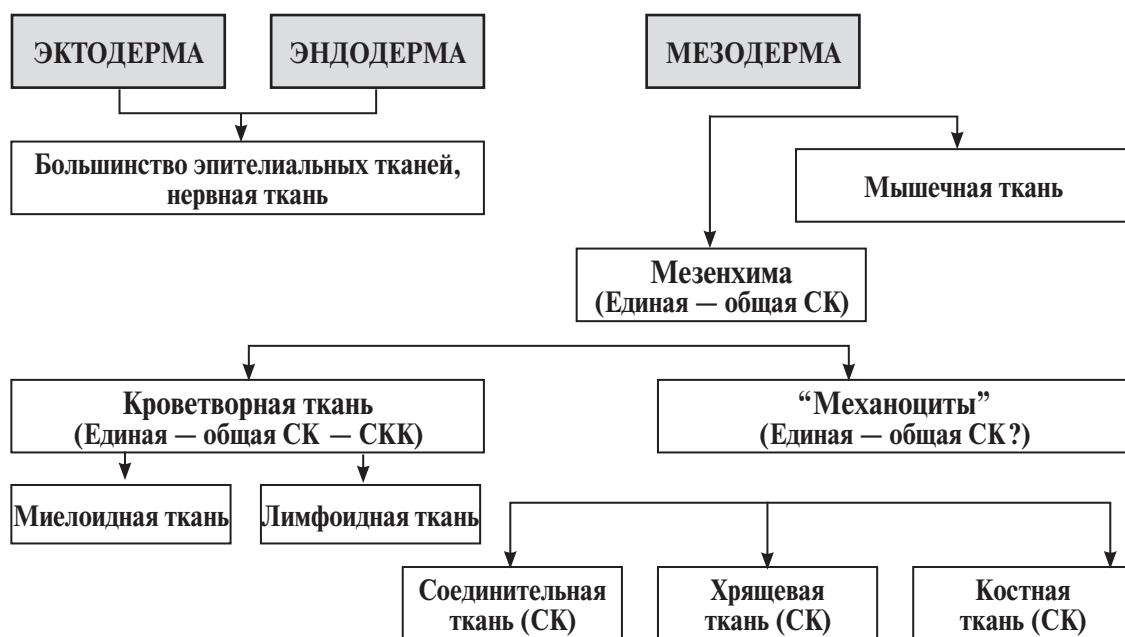


Рис. 1. Схема происхождения тканей в процессе эмбриогенеза

цессов клеток в тканях и органах по принципу обратной связи;

- наличие механизмов регуляции элементов кроветворной системы.

Регуляция деятельности кроветворных органов представляет собой целый ряд механизмов, которые могут использоваться организмом в зависимости от сложившейся ситуации (патологии). Это активаторы (индукторы) развития клеток, осуществляющие направленную дифференцировку стволовых кроветворных клеток и ингибиторы, ограничивающие и регулирующие их действие.

Факторы регуляции гемопоэза подразделяются на коротко-дистантные для СКК и дальнедействующие для коммитированных предшественников и созревающих клеток. К ним относят:

- факторы, активирующие гемопоэз, влияющие на СКК и ранние клетки-предшественники такие как фактор стволовых клеток (ФСК), колониестимулирующий фактор гранулоцитов (Г-КСФ), интерлейкины (ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-12), а также ингибиторы, которые тормозят выход СКК из состояния покоя в клеточный цикл (MIP-1 α , HOP- β , ФНО α , кислые изоферритины и др.). Эта фаза регуляции СКК не зависит от запросов организма;

- неспецифические факторы — ИЛ-3, ИЛ-4, ГМ-КСФ, активирующие гранулоцитопоэз;

- специфические позднедействующие факторы, которые поддерживают пролиферацию и созревание коммитированных предшественников и их потомков: эритропоэтин, тромбопоэтин колониестимулирующие факторы (Г-КСФ, макрофагальный М-КСФ, гранулоцитарно-макрофагальный — ГМ-КСФ), ИЛ-5. Один и тот же ростовой фактор может иметь разнообразные клетки-мишени на различных этапах дифференцировки. Это обеспечивает взаимозаменяемость факторов, регулирующих гемопоэз и повышает надежность системы [7].

Апоптоз обеспечивает элиминацию из организма отживших или поврежденных клеток (клеток-мутантов, вирусинфицированных, клеток опухоли).

Индуктором регуляции апоптоза является белок p53, относящийся к группе генов-супрессоров опухоли. Кроме того, p53 участвует в управлении клеточным циклом, вызывая блок в делении клеток при повреждении ДНК. Генетические

дефекты, связанные с мутацией гена p53, приводят к образованию злокачественных опухолей с пониженной способностью к апоптозу. Одним из основных ингибиторов апоптоза считается продукт гена bcl-2. Антиапоптотическим действием обладают ростовые факторы (фактор стволовых клеток, тромбопоэтин, эритропоэтин, колониестимулирующие факторы, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-6 и др.). Ростовые факторы действуют не только на клетки-предшественники, но и на зрелые клетки, обеспечивая их выживание и нормальное функционирование.

Последовательность реакций во многом определяется дегенерацией клеток в органах, тяжестью и остротой патологического процесса, местными изменениями, видом возбудителя, использованием резерва клеток синусов селезенки и костного мозга, ускоренным созреванием, выходом клеток из митоза и возвращением в митоз, объемом неэффективного гемопоэза, дефектным апоптозом, и, наконец, активным введением в митоз СКК.

Структуру кроветворных органов (костный мозг, тимус, селезенка, лимфатические узлы) представляют соединительная ткань, паренхима, сосуды, эндост как общие составляющие паренхиматозных органов.

Паренхима — субстанция нестабильная. Основную массу паренхимы составляют специализированные клетки. Клетки паренхимы находятся в тесной взаимосвязи с элементами соединительной ткани, которые вместе с соединительнотканными волокнами образуют ячейки, где располагаются клетки паренхимы. В костном мозге паренхиму составляют клеточные элементы эритроцитопоэза, грануломоноцитопоэза, тромбоцитопоэза (рис. 2).

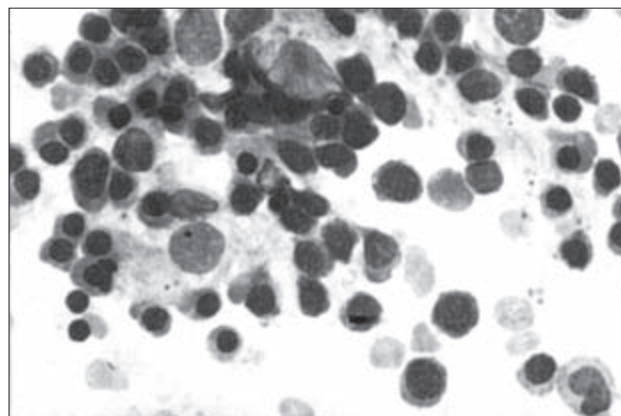


Рис. 2. Костный мозг: колония эритробластов разной степени зрелости вокруг макрофагов ($\times 1000$)

В паренхиме согласно закону диалектики — отрицание отрицания, процессы образования новых клеток сменяются их гибелью (апоптоз, отмирание). Чтобы сохранить равновесие, поддерживать клеточную массу кроветворных органов, постоянно происходят альтернативные процессы — одни клетки заканчивают свой жизненный цикл, который для каждого вида определен генетически, другие приходят им на смену. В нормальных физиологических условиях основные генетически заложенные программы — пролиферация, дифференцировка и созревание клеток и их апоптоз, определяют существование и жизнедеятельность клеток всех тканей организма, в том числе и элементов гемопоэза. При патологии помимо апоптоза клетки подвергаются разрушению путем некроза, гемолиза (разрушение, лизис), которые могут быть вызваны различными патологическими агентами.

Стимулом к активации костномозгового кроветворения и вводу СКК в митоз являются процессы деградации и гибели клеток, происходящие в тканях на периферии, а также гормональная регуляция цитокинами, интерлейкинами, факторами роста, эритропоэтином, витамином В₁₂, фолиевой кислотой и прочими гемопоэтическими факторами, влияющими на пролиферацию клеток гемопоэза, которые вырабатывают элементы соединительной ткани и другие элементы микроокружения.

Клеточная масса паренхиматозного органа восстанавливается за счет клеточной регенерации

В нормальных условиях кроветворные клетки (миелоидные и лимфоидные) обновляются за счет СКК, ранее заселивших органы, а также вновь поступающих в них предшественников. Мигрирующие клетки могут поселиться на новом месте гемопоэтических территорий и дать клеточное потомство. От действия местных гемопоэтических факторов зависит вхождение СКК в митоз, размеры и число колоний, а также вид клеточного потомства.

Соединительная ткань образуется из рыхлой мезенхимы, производной мезодермы, из которой также формируется кроветворная ткань. Мезодерма в свою очередь представляет собой один из трех зародышевых листков (эктодерма, энтодерма, мезодерма) бластулы, формирование которой заканчивается на ранней стадии развития зародыша (эмбриогенез).

Соединительная ткань не граничит с внешней средой и полостями тела. Обеспечивая опору и

питание эпителиальным клеткам и железам, она тесно связана с мышечной тканью и сосудами. Клеточные структуры паренхимы погружены в соединительную ткань органа.

Соединительная ткань не однородна по своему строению. В ней различают:

- собственно соединительную ткань, которая делится на рыхлую волокнистую и плотную волокнистую, последняя в свою очередь подразделяется на оформленную и неоформленную,
- со специальными свойствами: жировая, ретикулярная, слизистая, пигментная,
- скелетные соединительные ткани: хрящевая, костная,
- кровь, лимфа, кроветворная ткань.

Соединительная ткань в зависимости от места ее локализации в органах выполняет различные функции:

- механическую и опорную, входя в состав капсулы и стромы паренхиматозных органов,
- защитную, являясь составной частью структуры фасций, хрящей, костей,
- трофическую, регулируя питание прилежащих тканей, участвуя в обмене веществ,
- пластическую, обеспечивая процессы адаптации, регенерацию клеточных элементов и заживление ран.

Наличие различных функций соединительной ткани связано с неоднородностью ее структуры

Между разными типами механоцитов, как свидетельствуют экспериментальные данные, в постнатальном онтогенезе сохраняется гистогенетическая близость. Стромальная ткань для костномозговой паренхимы, помимо опорной функции, участвует в осуществлении миграции, сортировки, репликации, пролиферации и дифференцировки клеток костного мозга [18].

Клеточным элементам соединительной (стромальной) ткани — фибробластам отводится важная роль в микроокружении паренхиматозных клеток органов и тканей. Фибробласты имеют крайне низкий темп обновления; способны синтезировать волокна, образующие сеть, гетерогенны, неоднородны по своей структуре и имеют сложную организацию [1]. В костном мозге содержатся два вида СК: СКК и МСК. Показано, что КОЕ фибробластов являются полипотентными потомками МСК с более низкой способностью к пролиферации. Маркерный ген несет как МСК, так и КОЕ-Ф и зрелые стромальные клетки [22].

Фибробласты в монослойной культуре — крупные клетки с большим количеством цитоплазматических отростков и ядрами различной величины. В ядрах при специальной окраске выявляется несколько ядрышек. Встречаются клетки с двумя ядрами. В фибробластах цитохимическими методами выявляются: нуклеолярный аппарат (рис. 3), гликоген (рис. 4), кислая фосфатаза (рис. 5) и неспецифическая эстераза (рис. 6), липиды.

С деятельностью фибробластов связан синтез волокон коллагена, эластина и аморфного вещества, заживление ран, образование рубцовой ткани, соединительнотканной капсулы вокруг инородного тела.

Соединительная ткань разных органов выполняет различные функции.

Клетки соединительной ткани кроветворных органов, вырабатывающие многочисленные цитокины, интерфероны, факторы роста, участвуют в пролиферации и дифференциров-

ке СКК и осуществляют ввод СКК в митоз. Фибробласты выполняют свои функции вместе с другими элементами соединительной ткани, составляя систему короткодистантных регуляторов микроокружения СК. Нарушение гомеостаза клеточных взаимодействий фибробластов или изменение антигенных свойств клеток приводит к патологии структурно-функциональных отношений фибробластов и клеток гемопоэза. Территории, пригодные для заселения кроветворными клетками, создает строма кроветворных органов. Самообновление и дифференцировка СК происходит в соединительной ткани кроветворных органов, которая представляет собой специализированную структуру, обеспечивающую нормальную репопуляцию кроветворных клеток.

Гемопоэтическая и соединительная ткани, являясь производными мезенхимы, генетически и в функциональном отношении составляют единое целое, определяя регенерацию клеток гемопоэза.

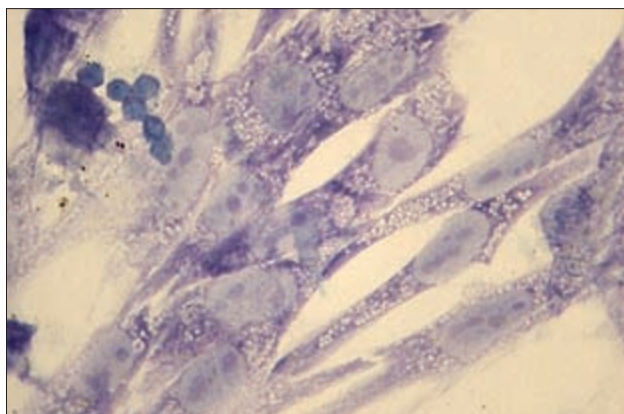


Рис. 3. Нуклеолярный аппарат ядер фибробластов монослойной культуры: 1 — гомогенные ядрышки; 2 — кольцевидные ядрышки ($\times 1000$)

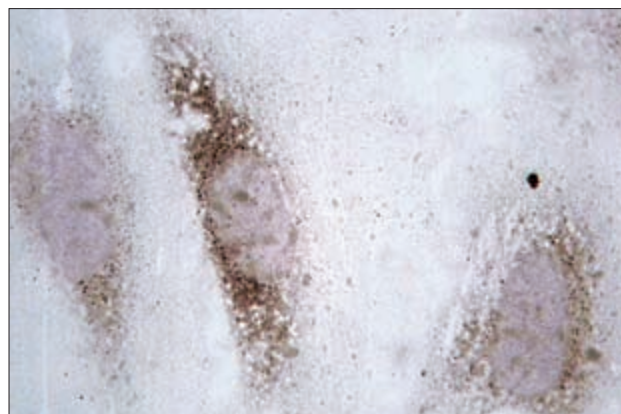


Рис. 4. PL8-положительный материал в цитоплазме фибробластов монослойной культуры ($\times 1000$)

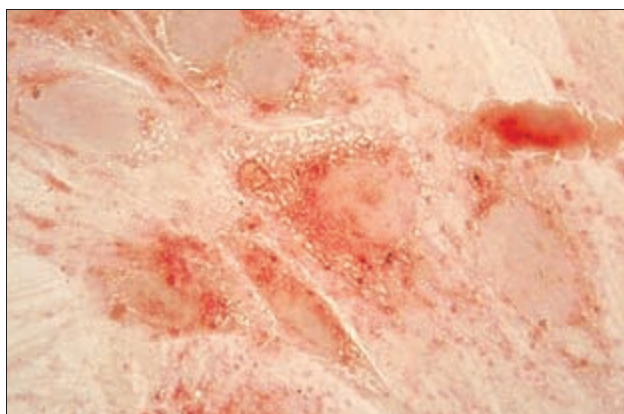


Рис. 5. Кислая фосфатаза в фибробластах монослойной культуры ($\times 1000$)

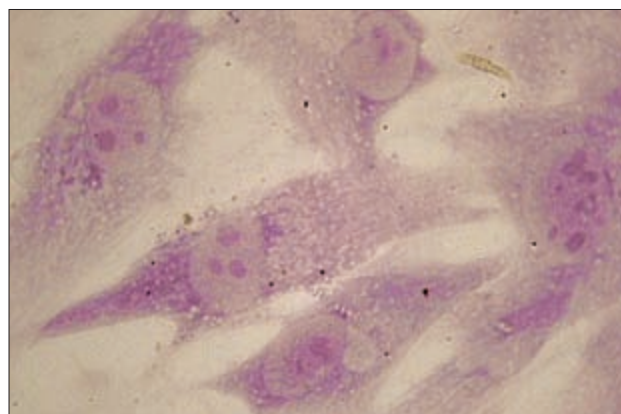


Рис. 6. Неспецифическая эстераза с субстратом α -нафтил-ацетатом в фибробластах монослойной культуры ($\times 1000$)

В нормальных условиях взаимодействие клеточных структур кроветворения и соединительной ткани сбалансировано. От клеток микроокружения зависит реализация дифференцировочных и пролиферативных возможностей гемопоэтических клеток-предшественников. Поэтому в развитии паренхиматозных клеток элементы соединительной ткани паренхиматозных органов, по А.А. Максимова “тканевые предстadiumы клеток крови недифференцированный *мезенхимальный синцитий*” или “*камбиальные клетки*” А.А. Заварзина, являются донорами СКК.

Строма кроветворных органов способна к полноценному морфогенезу, в результате которого во взрослом организме и образуются новые кроветворные территории. Регулирующее влияние микроокружения на кроветворение подтверждается гетеротропной трансплантацией гемопоэтической ткани, при которой происходит перенос клеток микроокружения, т.е. “каркас кроветворного органа является донорским” [21].

Благодаря фактору роста эндотелия сосудов (УЕОР) костномозговое микроокружение оказывает поддерживающее действие на рост клеток (в данном случае речь идет об опухолевых миеломных клетках) и неоваскуляризацию очагов миеломной инфильтрации. Было также показано, что строма может в ответ на действие ангиогенных факторов освобождать цитокины (ИЛ-6 — ключевой цитокин роста множественной миеломы, его секреция осуществляется как стромальными клетками, так и миеломными), поддерживая рост опухоли [29].

При исследовании культуры клеток печени обнаружено, что стромальные клетки в первичной культуре печени человека на стадии гемопоэза экспрессируют и мезенхимальные, и эпителиальные маркеры. По мнению авторов, такая популяция подходит к определению клеток как “эпителиально-мезенхимального перехода” [28]. Гемопоэтическая поддерживающая способность этих клеток теряется после созревания гепатоцитов. Эти клетки были обнаружены в микроокружении печени плода на гемопоэтической стадии и отсутствовали в печени в конце беременности и у взрослых по окончании ее кроветворной функции. Высказывается предположение, что эти клетки представляют особый тип стромальных клеток, которые могут происходить из эндодермальных или мезенхи-

мальных стволовых клеток печени, или даже из циркулирующих СКК, заселяющих клетки печени.

Тесное расположение паренхиматозных и стромальных элементов обеспечивает им взаимосвязь, клеточные контакты, определяет развитие гемопоэтических элементов.

Параллельное развитие соединительной и кроветворной тканей в период эмбриогенеза способствует их взаимодействию и морфогенезу.

Строма костного мозга является источником сигналов, которые воспринимаются рецепторами мембран клеток, преобразуются при участии сложных взаимодействий клеток органелл и поступают в ядро, где происходит запуск экспрессии генов, необходимых для клеточной пролиферации и дифференцировки. В результате этого начинают реализовываться генетические программы, ответственные за формирование тканеспецифических и стадийспецифических клеточных фенотипов с соответствующими морфологическими и функциональными особенностями клеток гемопоэза. Функциональные и структурные изменения элементов микроокружения могут быть причиной нарушений кроветворной функции костного мозга.

Костная ткань также непосредственно соприкасается с паренхимой костного мозга. Зона наиболее активного кроветворения примыкает к эндосту, связывая костномозговое микроокружение с костной тканью, и оказывает влияние на ее развитие. Становление костномозгового кроветворения тесно связано с формированием костей скелета, которое опережает гемопоэз и участвует в создании стромального матрикса костного мозга [4,21].

Костная ткань вместе со стромой и клетками макрофагальной системы образуют то микроокружение, которое обеспечивает развитие клеток гемопоэза. Кость рассматривают как экологическую нишу кроветворной ткани и как футляр, в который упакован костный мозг [21].

Имеются данные, что фибробласты, выстилающая и обволакивающая костномозговые синусы, контактируют с гемопоэтическими элементами в костномозговой паренхиме и находятся в тесной кооперации с эндотелиальными клетками стенки костномозговых синусов [12].

Установлено также анатомическое строение ниш костного мозга, основным структурным элементом которых оказались веретеновидные остеобласты. Они поддерживают функции и

свойства, определяющие принадлежность СКК к стволовым клеткам за счет активирующих и модулирующих сигналов, передающихся между плотно контактирующими остеобластами и СК. СКК локализируются на поверхности эндоста губчатой кости. Экспериментально доказано опосредованное влияние на СКК паратиреоидного гормона, который признан системным регулятором кроветворения ниш [17].

Роль цитокинов в образовании и обмене новой костной ткани выявлена при деформации остеобластов и остеоцитов (при дистракции). Обнаружено, что в них вырабатываются и выделяются в окружающую среду цитокины, действующие на перициты, остеокласты и другие клетки, что сопровождается созданием или разрушением костной ткани. Молекулярный механизм действия цитокинов (белковых сигнальных молекул) на образование и обмен новой костной ткани основывается на регулировании мириад клеточных процессов. Наиболее хорошо изучены трансформирующий фактор роста (ТФР- β), инсулиноподобный фактор роста (ИФР), фактор роста фибробластов (ФРФ), морфогенетический белок кости (МБК), фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС), а также внеклеточный коллагеновый матрикс и неколлагеновые белки внеклеточного матрикса [23].

Таким образом, в патогенезе костномозгового кроветворения наиболее вероятно линия: кость (эндост) — соединительная (ретикулярная) ткань — костный мозг.

Сосуды являются структурной составляющей паренхиматозных (кроветворных) органов. Образование сосудов происходит у зародыша параллельно с появлением первых элементов гемопоэза. Клеточные элементы сосудистой стенки участвуют в процессах регенерации кроветворных клеток.

Взаимодействие клеток кроветворной ткани и эндотелия сосудов осуществляется благодаря регулирующим факторам сосудов. Эндотелий сосудов синтезирует [27] васкулярный эндотелиальный фактор роста (фактор роста эндотелия сосудов) — ангиогенный пептид различной биологической активности, который осуществляет регуляцию развития эмбриональной СК, ремоделирование внеклеточного материала, локальную продукцию провоспалительных цитокинов, в частности стромы может в ответ на действие ангиогенных факторов освобождать цитокины [29].

Следовательно, микроокружение СК представлено элементами соединительной, костной тканей и сосудов.

Особенности периодов кроветворения. Эмбриональный гемопоэз отличается от постнатального наличием периодов, сопровождающихся сменой топографии его в органах, в которых осуществляется кроветворение, неодинаковым клеточным составом кроветворной паренхимы и микроокружения СКК, изменением их по мере развития плода. Одни органы включаются в кроветворение, в других кроветворение прекращается. Этим переходам (смена места кроветворения) сопутствует появление на клетках новых маркеров — дифференцировочных антигенов, клеточных типов, вида гемоглобина и т.д.

В желточном мешке микроокружение СКК составляет мезенхимальный эндотелий его мезодермальной стенки. В печени появляются клетки эпителия из энтодермы. Микроокружение СКК в селезенке, костном мозге, лимфатических узлах представлено ретикулярной тканью, клетками мезенхимального происхождения, эндотелием сосудов, а в костном мозге, кроме того, эндостом. До 7 месяца эмбрионального развития в селезенке и лимфатических узлах имеет место универсальное кроветворение. Затем изменяется микроокружение их СКК, и они теряя способность к миелопоэзу становятся органами лимфопоэза [2].

Существует органная специализация кроветворного микроокружения (соединительной ткани органа), которое определяет дифференцировку клеток органов гемопоэза в постнатальном периоде.

Вместе с тем при некоторых патологических состояниях миелоидное кроветворение может вновь возникнуть в селезенке и лимфатических узлах, например при обильной кровопотере, острых и хронических лейкозах, гемолитических анемиях.

Особенность кроветворения в территориальной его раздробленности, вследствие чего СКК перемещаясь по определенным территориям, в зависимости от структуры микроокружения оседают в тех органах кроветворения, где их дальнейшую дифференцировку определяет соединительная ткань. Ответ органов кроветворения, которые работают как один слаженный механизм, на различные факторы (естественную убыль клеток, кровопотерю, гемолиз, инфекции и другие) может быть как в виде изменения количества клеток (клеточная регенерация), так

и их морфологии и функции (внутриклеточная регенерация).

Возможно, системность лейкозов объясняют как миграцию опухолевых клеток в разные гемопоэтические территории, так и наличие “опухолевого поля” (патология стромы).

Нарушение любого звена в системе “соединительная ткань — кость - костный мозг” приводит либо к дисбалансу кроветворения, либо к его патологии. Факты, подтверждающие влияние различных систем на гемопоэз, приводятся в работах многих авторов [11].

Регуляция гемопоэза и поддержание гомеостаза в костном мозге требует хорошо сбалансированного взаимодействия между гемопоэтической и иммунной системами. Дизрегуляция иммунных процессов при аутоиммунных и хронических воспалительных заболеваниях может изменять функцию костномозговых клеток-предшественников и/или их микроокружение за счет продукции провоспалительных цитокинов, или нарушения межклеточных взаимодействий. Дефектность стромального компонента костного мозга и нарушение гемопоэза обнаружены при ревматоидном артрите. Предполагается, что изменение функции костного мозга происходит на фоне активной формы артрита за счет активации стромальной ткани и повышенной секреции фактора некроза опухоли (TNF- α), который вызывает ускоренный апоптоз СКК [33].

Лимфоцитарно-фибробластические контакты являются одним из механизмов регуляции митотической активности фибробластов, и контроля за величиной лимфоидной инфильтрации, и миграцией лимфоцитов из крови в ткани [1].

Разбалансировка кроветворения наблюдается при миелодиспластических синдромах (МДС) — группе заболеваний органов гемопоэза. Признаки миелодисплазии при МДС могут проявляться дисэритропоэзом, дисгранулоцитопоэзом, дисмегакариоцитопоэзом или различным их сочетанием, в виде количественных и качественных нарушений гемопоэтических клеток. Считают, что МДС развивается вследствие приобретенных генетических дефектов СКК, а также дизрегуляции апоптоза [20, 25, 26].

Для МДС, как и для приобретенной апластической анемии (АА) характерен постоянный, глубокий пролиферативный дефект гемопоэтических клеток с относительной толерантностью к ростовым факторам [13].

МДС может быть следствием лучевой и цитостатической терапии, наблюдается при анемии Фанкони и иногда носит временный характер [3, 6]. Однако с его развитием появляется опасность возникновения патологического клона — в одних случаях с трансформацией в острый лейкоз, в других — в АА, исходом которой также может быть бластный криз.

Морфологические и функциональные изменения гемопоэтических клеток, которые в гематологии оценивают как миелодиспластические [8], в цитологии (онкологии) обозначают термином “дисплазия”. Дисплазия рассматривается как нарушение дифференцировки клеток предракового характера в результате пролиферации недифференцированных клеток-предшественников, СК с развитием в них атипии. Дисплазия проявляется увеличением митотической активности, атипичными митозами, полиморфизмом и гиперхромией ядер, увеличением ядерно-цитоплазматического отношения, изменением функциональной активности клеток. Нарастание диспластических изменений может привести к опухолевой трансформации дисплазированной ткани [15].

Дисплазия вполне соответствует аналогичным изменениям в клетках гемопоэза, которые могут предшествовать развитию лейкоза — опухоли кроветворных органов; эти изменения недавно обозначались как прелейкемия.

Дисплазия или миелодисплазия (в гематологии) характеризуется анизоцитозом клеток, склонностью к макроцитозу, гигантским размерам ядер и клеток, анизохромией, пикнозом ядер, их фрагментацией, кариорексисом, асинхронным созреванием ядра и цитоплазмы, гипо- или гиперсегментацией ядер, нарушением гранулогенеза в цитоплазме клеток, дегенерацией клеток и т.д.

Поражение стромальной ткани вызывает глубокую депрессию кроветворных элементов на ранней стадии их развития, в результате нарушается клеточная кинетика, происходит изменение клональной структуры гемопоэза, биологических свойств клеток, увеличение мутантных клонов. Эти изменения могут предшествовать возникновению опухоли, создавая условия для опухолевого роста клеток гемопоэза. Опухоли кроветворных органов развиваются из гемопоэтических клеток.

По мнению Д.И. Головина [5], опухоль возникает из большого опухолевого поля, путем стадийной опухолевой трансформации нормальных

тканей, попавших в зону опухолевого поля. При лейкозах опухолевым полем может быть строма, на которой развиваются клетки кроветворных органов, что, возможно, обусловлено дефектностью или недостаточностью соединительной ткани, создающей микроокружение элементам гемопоэза [13], а, следовательно, она может быть причастна к развитию опухолей кроветворной ткани.

Цитохимические, иммунологические, антигенные и генетические характеристики клеток являются маркерами их дифференцировки (развития), стадии их созревания или принадлежности к какой-либо гемопоэтической линии. Любые маркеры — цитохимические, иммунологические — дифференцировочные антигены клеток или молекулярно-генетические (хромосомные и генные аномалии), позволяют судить о нарушении клеточного развития, появлении сбоя в дифференцировочных антигенах, образовании новых клеточных клонов (субклонов).

Элементы микроокружения — соединительная ткань, эндост, являются дирижером этих нарушений.

Генная патология, которая выявляется обычно при опухолях кроветворных органов, свидетельствует о поломках в хромосомном аппарате клеток гемопоэза и опосредованно о нарушении функции фибробластов, которые составляют основу микроокружения и обеспечивают начальные этапы развития СКК. Структурные и функциональные изменения элементов микроокружения могут быть причиной нарушений кроветворной функции костного мозга. В связи с этим нельзя исключить роль стромы костного мозга в развитии патологии гемопоэза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобро Л.И. Фибробласты и их значение в тканевых реакциях // *Архив патологии*. — 1990. — № 12. — С. 65–68.
2. Гаврилов О.К., Козинец Г.И., Черняк Н.Б. Клетки костного мозга и периферической крови. — М.: Медицина, 1985. — 286 с.
3. Гистопатология миелодиспластического синдрома: вопросы диагностики, гипопластический вариант и проблемы вторичного МДС / А. Георгии, Т. Бюр, Х. Машек, Н. Хориц // *Гематол. и трансфузиол.* — 1995. — Т. 40, № 2. — С. 11.
4. Глузман Д.Ф., Складенко Л.М., Нагорная В.А., Климяков Г.И. Иммуноцитохимическая диагностика опухолей кроветворной и лимфоидной ткани у детей. — К.: ДИА, 2005. — 198 с.
5. Головин Д.И. Атлас опухолей человека. — Ленинград, 1975.
6. Зоумбос Н. Анапластическая анемия и миелодисплазия: различные проявления одного причинного фактора? //

Гематол. и трансфузиол. — 1995. — Т. 40, № 2. — С. 23–24, 33.

7. Лопухин Ю.М. Этико-правовые основы проблемы стволовых клеток и “терапевтического клонирования” // М.: Мед. кафедра. — 2002. — 2, С. 6–9, 113–119.
8. Луговская С. А., Морозова В. Т., Почтарь М.Е., Долгов В.В. — *Лабораторная гематология*. — Москва. 2006. — Изд-во Триада, г. Тверь.
9. Мезенхимальные клетки пульпы молочного зуба: цитофенотип и первичная оценка возможности применения в тканевой инженерии костной ткани. Клеточные технологии в биологии и медицине. / И.В. Вахрушев, Ю.Г. Суздальцева, В.В. Бурунова, П.А. Каралкин, А.Ю. Лопатов, К.Н. Ярыгин // *РАМН*. — 2010. — № 1. — С. 55–60.
10. Морозова В.Т. Роль взаимодействия стромальной и гемопоэтической ткани в патологии кроветворения // *Клин. лаб. диагностика*. — 2003. — № 8. — С. 33–36.
11. Морозова В.Т. Роль стромы кроветворных органов в развитии лейкозов // *Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН*. — 2004. — № 3. — С. 84–90.
12. Натан Д.Г., Колин Л.З. Регуляция кроветворения // *Гематол. и трансфузиол.*, 1994. — Т. 39, N 2. — С. 3–10.
13. Ниссен К. Приобретенная апластическая анемия и миелодиспластический синдром: сколько болезней? // *Гематол. и трансфузиол.* — 1995. — Т. 40, № 2. — С. 23.
14. Ольшанская Ю.В. Кинетика кроветворных клонов в костном мозге сублетально облученных мышей. Автореферат дисс. ... канд. мед. наук. — М., 1999.
15. Полонская Н.Ю., Егорова О.В. Основы цитологической диагностики и микроскопическая техника. — М.: Медгиз, 2005. — С. 155.
16. Репин В.С., Сабурин И.Н. II Эмбриональные и взрослые стволовые клетки: место в современной медицине // *Лаб. медицина*. — 2006. — № 8. — С. 33–41.
17. Свинаярева Д.А. Влияние паратиреоидного гормона на кроветворные и стромальные клетки-предшественники. Автореферат дисс. к.м.н., М., 2006.
18. Старостин В.И., Мичурина Т.В. Строма кроветворных органов и ее взаимодействие со стволовой кроветворной клеткой. // В кн.: *Антропология*, под ред. Н.Г. Хрущева и В.И. Старостина. — М., 1977.
19. Сухих Г.Г., Малайцева В.В., Богданова И.М. Перспектива использования фетальных/прогенетивных клеток человека клеточной терапии // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. — Изд-во РАМН, 2008. — № 1. — С. 5–14.
20. Турбина Н.С. Миелодиспластические синдромы. Депрессия кроветворения // Под ред. О.К. Гаврилова, Ф.Э. Файнштейна, Н.С. Турбиной. М. Медицина, 1987. — С. 138–152.
21. Фриденштейн А.Я., Лурия Е.А. Клеточные основы кроветворного микроокружения. — М.: Медицина, 1980. — 212 с.
22. Характеристики мезенхимальных стромальных клеток-предшественников, маркированных лентивирусным вектором, в длительной культуре костного мозга / Н.В. Сац, И.Н. Шипунова, А.Е. Бигильдеев, Д.А. Свинаярева, О.А. Жиронкина, Н.И. Дризе // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. — Изд-во РАМН, 2010. — № 3. — С. 123–127.
23. Швырков М.Б., Обьедков Р.Г. Еще раз о дистракционном остеогенезе // *Русский стоматологический журнал*. — 2005. — № 1. — С. 17–23.
24. Явишева Т.М., Щербаков С.Д. Особенности пролиферации и дифференцировки в камбиальных и дочерних

клеток эпидермально-дермальной морфофункциональной зоны в нормальном эпителии и при раке // *Клеточные технологии в биологии и медицине.* — Изд-во РАМН, 2010. — № 2. — С. 88–94.

25. Anastasi J., Feng J., Le-Beace I. M. Cytogenetic clonality in myelodysplastic syndromes studied with fluorescence in situ hybridization: lineage, response to growth factor therapy, and clone expansion // *Blood.* — 1993. — Vol. 81 (6). — P. 1580–1585.
26. Bartram C.K. Molecular genetic aspects of myelodysplastic syndromes // *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* — 1992. — Vol. 6. — P. 557–570.
27. Bellamy W.T., Richter L., Sirjani D., Roxas C., Glinzmann-Gibon B. [Fruiger Y., Grogan T.M., List A.F.] Vascular endothelial cell growth factor is an autocrine promoter of abnormal localized immature myeloid / precursors and leukemia progenitor formation in myelodysplastic syndromes // *Blood.* — 2001. — Vol. 97, № 5. — P. 1427–1434.
28. Chagraoui J., Lepage-Noll A., Anjo A., Uzan G., Charbord P. Fetal liver stroma consists of cells in epithelial-to-mesenchymal transition // *Blood.* — 2003. — Vol. 101, № 8. — P. 2973–2982.
29. Dankbar B., Pardo T., Leo R., Feldmann B., Kropff M., Mesters R.M., Serve H., Berdel W.E.W., Kienast J. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma // *Blood.* — 2000. — Vol. 95, № 8. — P. 2630–2636.
30. Islam A. The origin and spread of human leukemia // *Med. Hypothes.* — 1992. — Vol. 39. — P. 110–118.
31. Papadaki H.J., Kritikos H.D., Gemetzi C., Koutala H., Marsh J.C.W., Boumpas D.T., Eliopoulos G.D. Bone marrow progenitor cell reserve and function and stromal cell function are defective in rheumatoid arthritis: evidence for a tumor necrosis factor alpha-mediated effect // *Blood.* — 2002. — Vol. 99, № 5. — P. 1610–1619.
32. Reyes M., Lund T., Lenvik T., Aguiar D., Koodie L., Verfaillie C. M. Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells // *Blood.* — 2001. — Vol. 98, № 9. — P. 2615–2625.
33. Varus F., Grande T., Ramirez A., Bueren J. Implantation of bone marrow beneath the kidney capsule results in transfer not only of functional stroma but also of hematopoietic repopulating cells // *Blood.* — 2000. — Vol. 96, № 6. — P. 2307–2709.

СТВОЛОВІ КЛІТИНИ В ГЕМАТОЛОГІЇ

В.Т. Морозова

Цікавість, яку викликають стовбурові клітини (СК), пояснюється можливістю успішного їх використання в терапії багатьох захворювань, в т.ч. лейкозів. СК — кровотворні клітини, є похідними мезенхіми, яка є початковим матеріалом для багатьох тканин організму — кровотворної, кісткової, сполучної, ендотелію. Кожний вид клітин має свою родоначальну (стволову) клітину. Роль стовлової кровотворної клітини полягає у підтримці необхідної клітинної маси кровотворних органів. Гемопоез — це постійне утворення клітинних клонів, яке залежить від сполучної тканини, ендосту, ендотелію, що складають мікрооточення кровотворних клітин. Гемопоез і сполучна тканини як похідні мезенхіми генетично і у функціональному відношенні складають одне ціле, визначаючи регенерацію клітин гемопоезу. Від клітин мікрооточення залежить реалізація диференційних і проліферативних можливостей клітин-попередників гемопоезу. Ураження стромальної тканини викликає глибоку депресію кровотворення на ранній стадії розвитку. В результаті порушується клітинна кінетика, змі-

нюються клональна структура гемопоезу, збільшується число мутантних клонів. Ці зміни нерідко передують виникненню пухлин кровотворних органів, які розвиваються з гемопоетичних клітин. Маркерами цих порушень можуть бути цитохімічні, імунологічні, генетичні характеристики клітин.

STEM CELLS IN THE HEMATOLOGY

V.T. Morozova

Interest in stem cells (SC), could be explained by the possibility of their successful use in therapy of many diseases, including leucosis. SC are haematopoietic cells and are derivatives of a mesenchyma that serves as an initial material for many tissues of an organism — haematopoietic, bone, connective, endothelium, etc. Each type of cells has the parent (stem) cell. The role of a haematopoietic stem cells involves the maintenance of necessary cellular mass of haematopoietic tissues. Haematopoiesis is continuous formation of cellular clones which depends on a connective tissue, endosteum, endothelium that compose a microenvironment of haematopoietic cells. Haematopoetic and connective tissues as mesenchyma derivatives are genetically and functionally a whole, that defines haematopoetic cell regeneration. Realization of differentiation and proliferative potential of HSC depends on microenvironment. Damage to stromal tissue causes a strong inhibition of a haematopoiesis. As a result the cellular kinetics becomes broken, the clonal structure of haematopoiesis changes, the number of mutant clones increases. These changes quite often precede the emergence of tumors of haematopoetic organs which develop from HSC. Cytochemical, immunological, genetic characteristics of cells can be markers of these disorders.

УДК 616–073. 916

А.И. Москалец¹, О.С. Бондарук²,
О.В. Щербина³

МАРКЕРЫ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА И ИХ РОЛЬ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

¹ Клиническая больница “Феофания”, Киев, Украина

² Центральный госпиталь МВД Украины,
Киев, Украина

³ Национальная медицинская академия
последипломного образования
имени П.Л. Шупика, кафедра радиологии,
Киев, Украина

Структура нормальной кости постоянно перестраивается. Такая метаболическая активность характеризуется двумя противоположными процессами: формированием новой кости остеобластами и резорбцией старой остеокластами. Опухолевый процесс или эндокринные изменения нарушают нормальный баланс между резорбцией и костеобразованием.