



ВОЛГОГРАДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

Стволовые клетки. Дифферон.

Лекция 7

Дифферон (гистогенетический ряд)

— совокупность клеточных форм, составляющих линию дифференцировки.

Дифферон составляют несколько групп клеток:

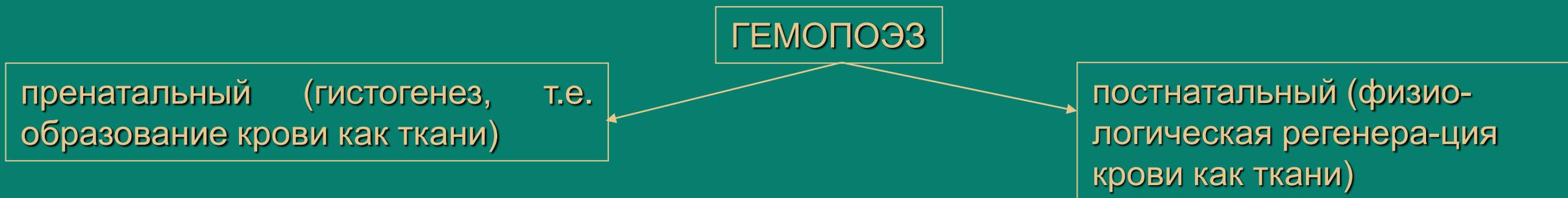
- 1) стволовые клетки,
- 2) клетки-предшественники,
- 3) зрелые дифференцированные клетки,
- 4) стареющие и отмирающие клетки.

Стволовые клетки — исходные клетки гистогенетического ряда — это самоподдерживающаяся популяция клеток, способных дифференцироваться в различных направлениях. Обладая высокими пролиферативными потенциями, сами они (тем не менее) делятся очень редко.

Клетки-предшественники (полустволовые, камбиальные) составляют следующую часть гистогенетического ряда. Эти клетки претерпевают несколько циклов деления, пополняя клеточную совокупность новыми элементами, и часть из них затем начинают специфическую дифференцировку (под влиянием факторов микроокружения). Это популяция коммитированных клеток, способная дифференцироваться в определенном направлении.

Зрелые функционирующие и стареющие клетки завершают гистогенетический ряд, или дифферон. Соотношение клеток различной степени зрелости в дифферонах зрелых тканей организма неодинаково и зависит от основных закономерных процессов физиологической регенерации, присущих конкретному виду ткани. Так, в обновляющихся тканях обнаруживаются все части клеточного дифферона — от стволовой до высокодифференцированной и гибнущей.

КРОВЕТВОРЕНИЕ (гемоцитопоз) – это процесс образования форменных элементов крови.



ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ГЕМОПОЭЗ:

- осуществляется в пренатальном онтогенезе поэтапно,
- разные этапы проходят в разных органах,
- между этапами нет четких границ – они перекрывают друг друга.

ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ГЕМОПОЭЗ ПОДРАЗДЕЛЯЕТСЯ НА ПЕРИОДЫ:

1. Желточный,
2. Гепато-тимо-лиенальный,
3. Медуллярный.

ЖЕЛТОЧНЫЙ ПЕРИОД КРОВЕТВОРЕНИЯ:

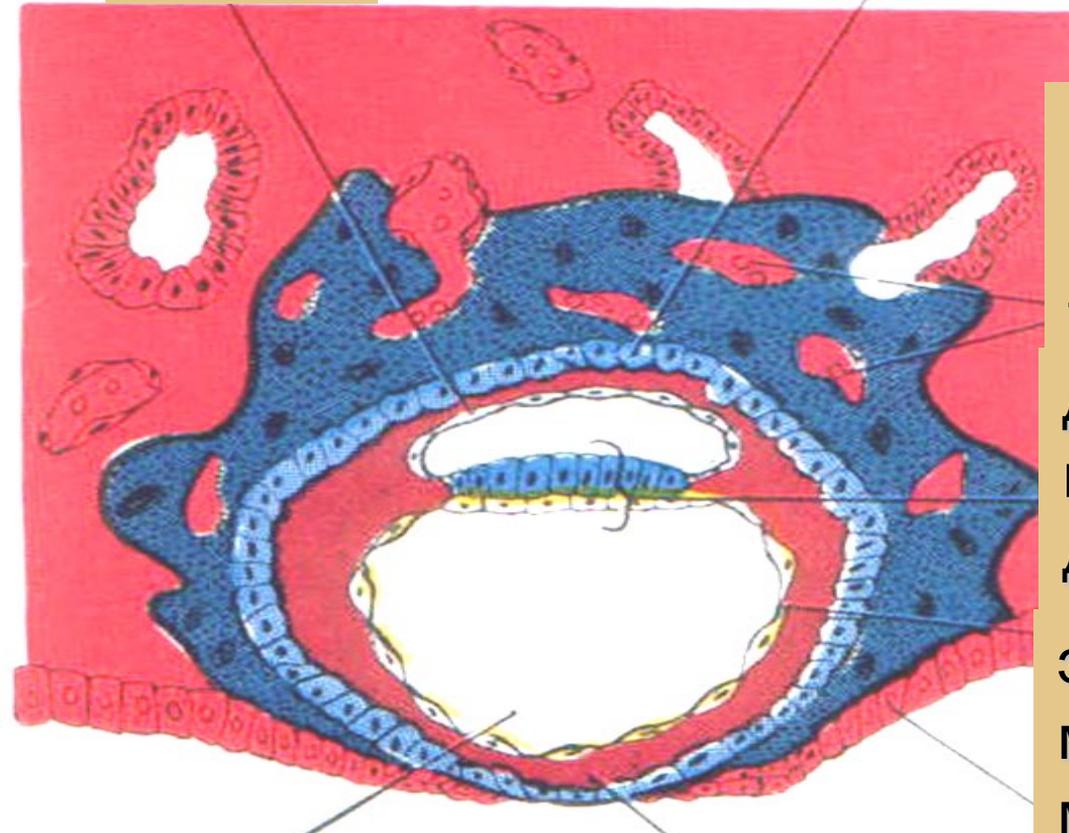
- начинается на 2-ой- 3-ей неделе в мезенхиме желточного мешка,
- сопровождается образованием кровяных островков из пролиферирующих мезенхимных клеток,
- центральные клетки островков округляются и превращаются в стволовые клетки крови,
- периферические клетки островков уплощаются и превращаются в эндотелий кровеносных сосудов,
- интраваскулярно стволовые клетки дают начало первичным эритроцитам (мегалобластам),
- экстраваскулярно стволовые клетки дают начало гранулоцитам.

Бластоциста, 9-ый день.
(начало желточного периода
гемопоза)

Клетки, вероятно из
гипобласта, образуют
тонкую экзоцеломиче-скую
мембрану (Хойзе-ровскую),
которая высти-лает, вместе
с гипо-бластом, полость
первич-ного желточного
мешка (экзоцеломической
полости).

амнион

цитотрофобласт st



материн-ская
кровь в
лакунах

двухслой-
ный заро-
дышевый

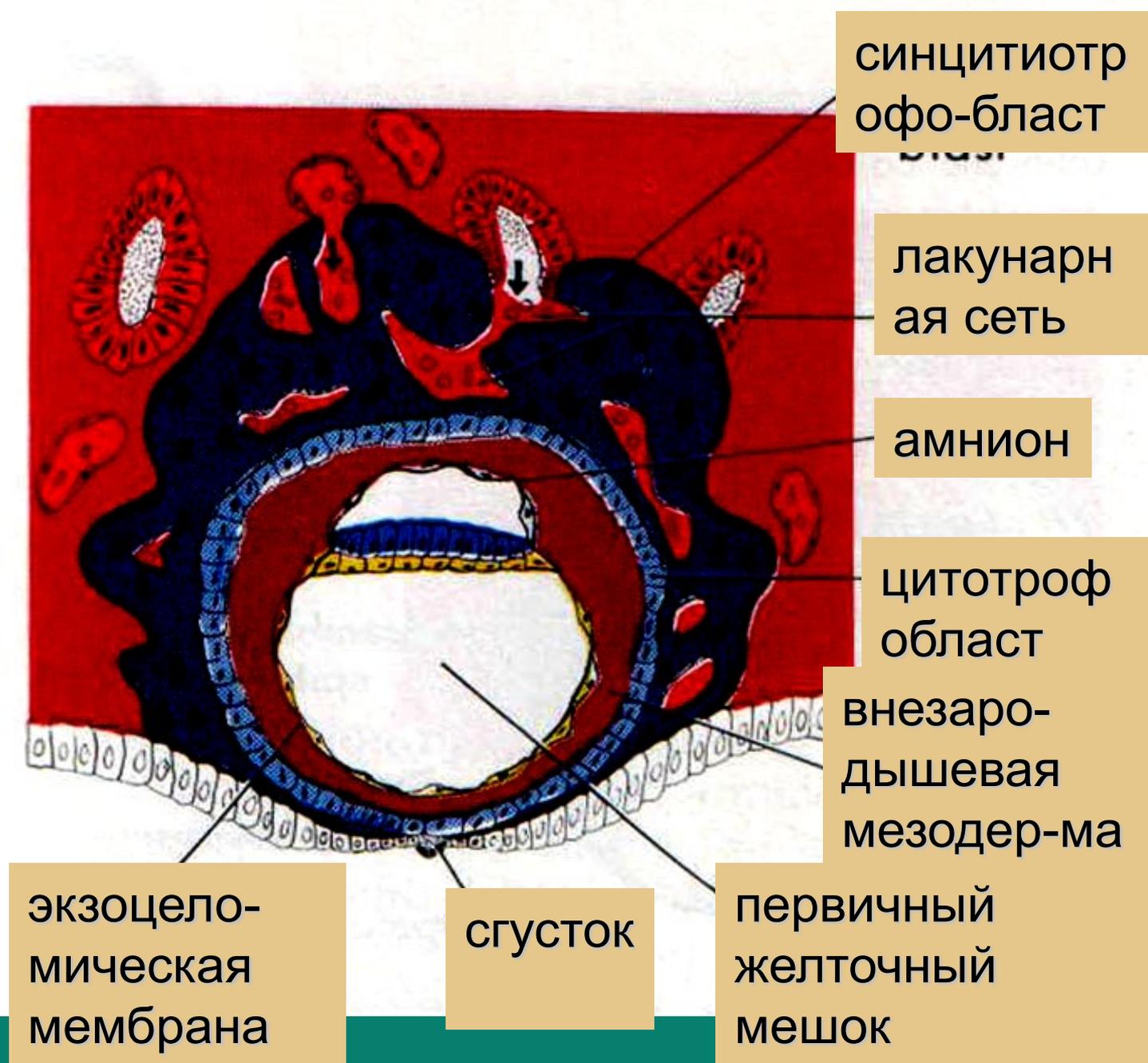
экзоцело-
мическая
мембрана

эпителий
эндометрия

первичный
желточный
мешок

внезароды-
шевая
мезодерма

Новая популяция клеток появляется между внутренней поверхностью цитотрофобласта и наружной поверхностью экзоцеломической полости. Эти клетки, происходящие из желточного мешка, образуют рыхлую соединительную ткань – внезародышевую мезодерму.



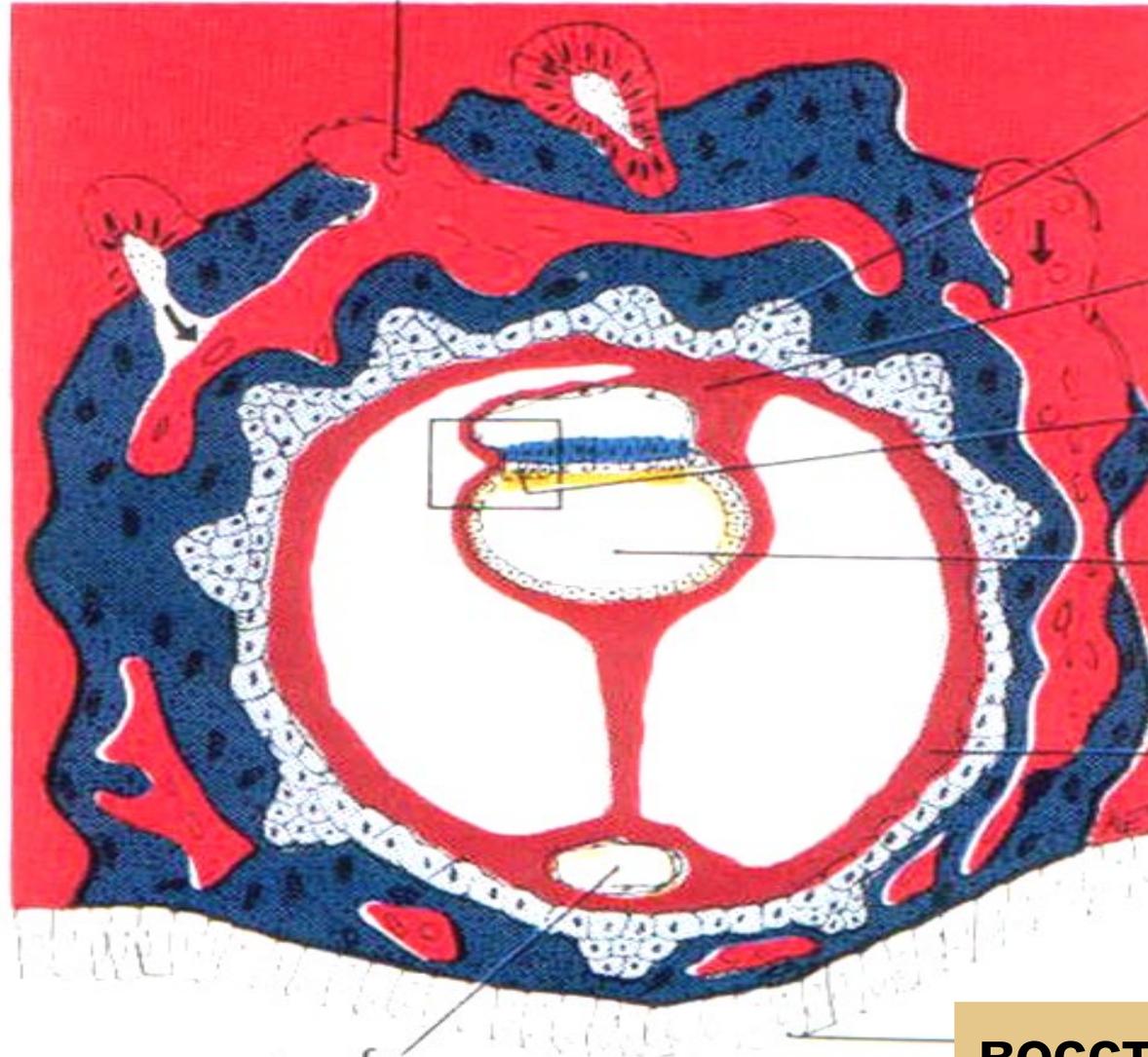
Бластоциста, 10 дней.

Бластоциста, 14 дней.

Экзоцеломические кисты – это фрагменты бывшего первичного желточного мешка/ экзоцеломической полости, отошедшие от него при формировании вторичного желточного мешка: они часто обнаруживаются в полости хориона.

материнская кровь

целом



первичная
ворсина
амниотиче-
ская

прехордаль-
ная

вторичный
желточный

внезароды-
шевая сома-
томезо-
дерма

восстановленный
поверхностный
эпителий

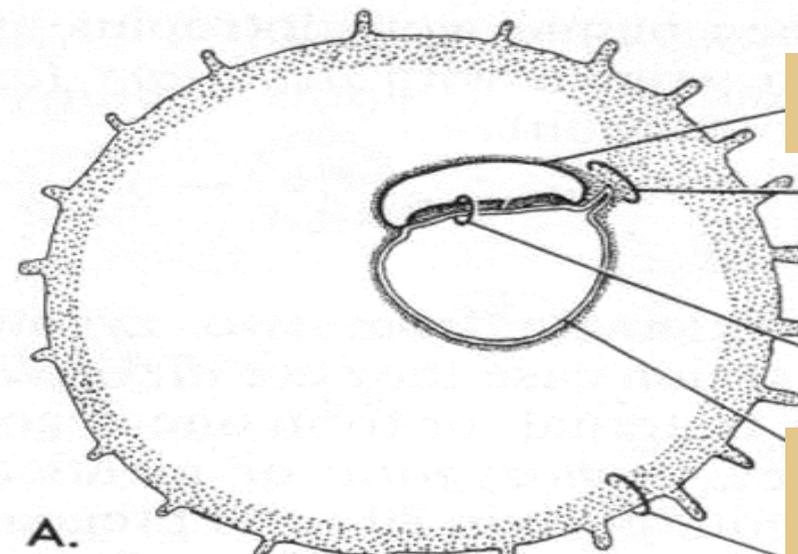
остатки первичного
желточного мешка

Образование пупочного канатика

канатика

У 3-х недельного эмбриона желточный мешок находится в полости хориона. В дальнейшем амниотическая полость увеличивается за счет полости хориона и амнион начинает покрывать будущую амниотическую ножку и желточный стебель, собирая их вместе и давая начало примитивному пупочному канатику.

В конце 3-ей недели кровяные островки присутствуют в стенке желточного мешка, внезародышевой мезодерме ворсинок хориона и амниотической ножки.



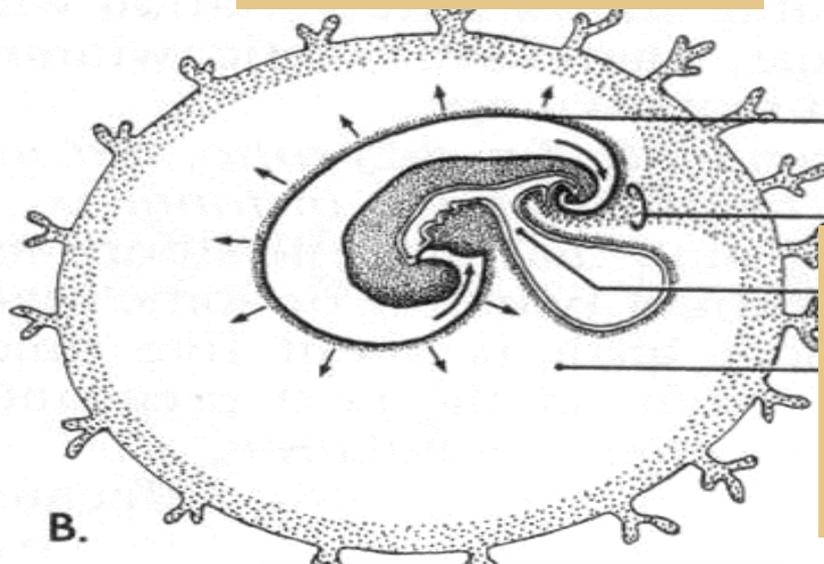
A.

3 недели

амнион

амниотическая ножка
эмбриональный стебель

желточный мешок
полость хориона



B.

4 недели

амнион

амниотическая ножка

желточный стебель
полость хориона

ЖЕЛТОЧНОЕ КРОВЕТВОРЕНИЕ:

- в конце 3-ей недели желточная сосудистая сеть соединяется с внутриэмбриональной, и устанавливается желточный круг кровообращения,
- кровь со стволовыми клетками из сосудов желточного мешка проступают в сосуды зародыша,
- стволовые клетки заселяют будущие кроветворные органы,
- с 8-ой недели желточный мешок начинает дегенерировать
- к 12-ой неделе желточное кроветворение прекращается.

ГЕПАТО-ТИМО-ЛИЕНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

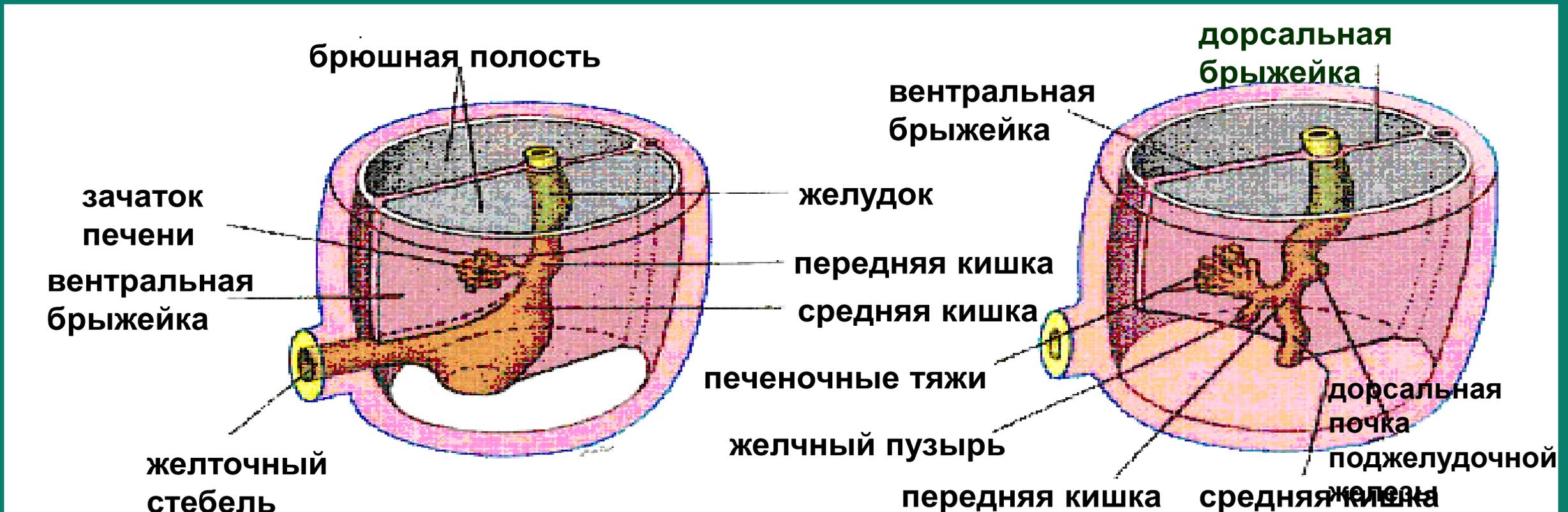
- характеризуется определенной органной локализацией,
- усложняет кроветворение качественно (появляется тромбоцитопоз, моноцитопоз, лимфопоз) и поднимает количественно,
- имеет экстраваскулярный характер,
- сопровождается переходом на нормобластический тип кроветворения.

ГЕПАТО-ТИМО-ЛИЕНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Печень:

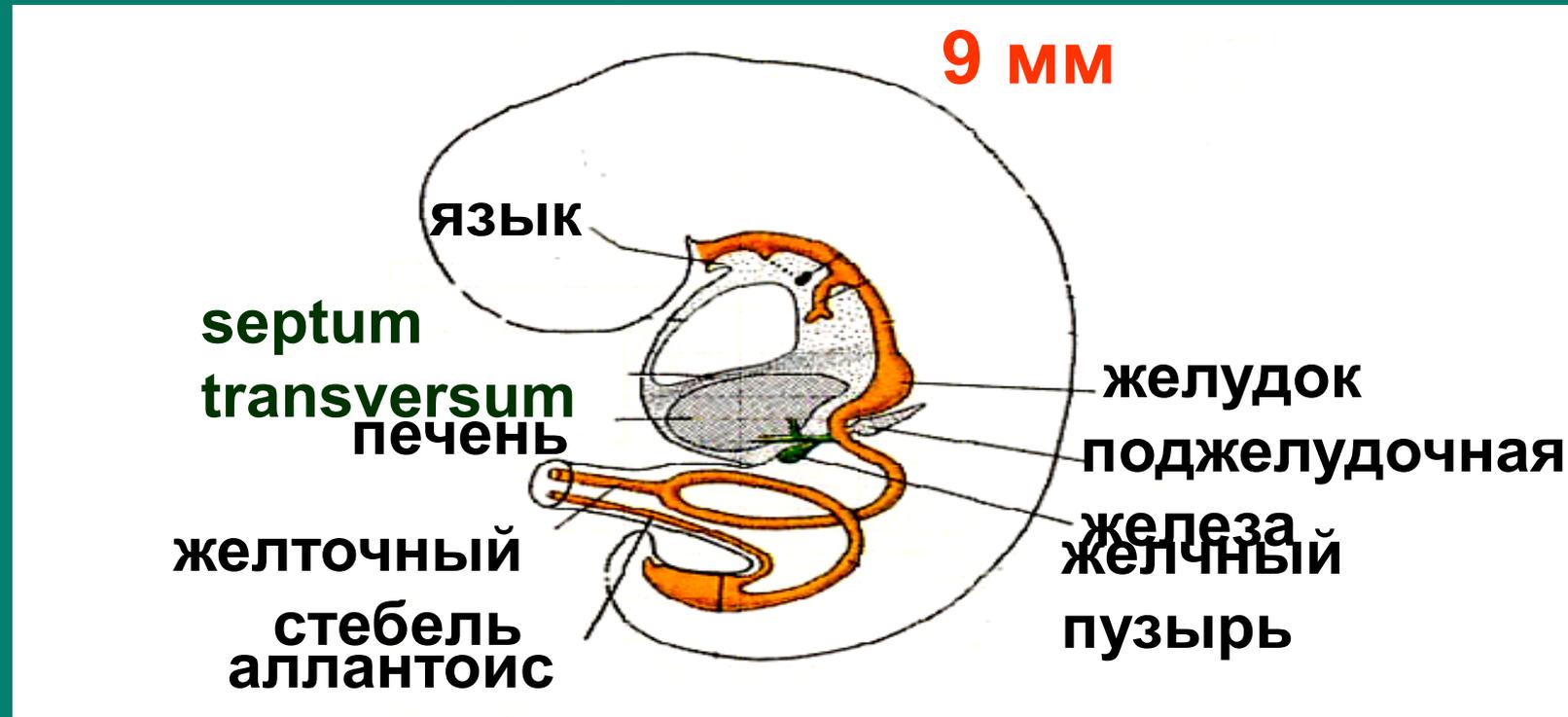
- 1) становится органом кроветворения с 5-ой-6-ой недели, пик кроветворной активности находится между 3-им и 6-ым месяцем,
- 2) до конца 5-го месяца здесь происходит, в основном, миелоидное кроветворение (эритро-, гранулоцито- и тромбоцитопоз), а также В-лимфоцитопоз.
- 3) гемопоэз происходит экстраваскулярно,
- 4) к концу 5-го месяца интенсивность гемопоэза снижается и к моменту рождения полностью прекращается.

РАЗВИТИЕ ПЕЧЕНИ



Зачаток печени появляется в середине 3-ей недели – начале 4-ой недели в виде выроста энтодермального эпителия на дистальном конце передней кишки. Этот вырост называется печеночный дивертикул. Из него происходят печень, желчный пузырь и система желчных протоков.

Развитие печени, желчного пузыря и системы желчных протоков.



36 дней, дивертикул делится на 2 части на 4-ой неделе: краниальная часть формирует паренхиму печени, а каудальная – желчный пузырь и пузырьный проток. Паренхима печени взрослого произошла печеночного дивертикула, в то время как клетки Купфера, гемопоэтические клетки, кровеносные сосуды и соединительная ткань - из поперечной перегородки (septum transversum).

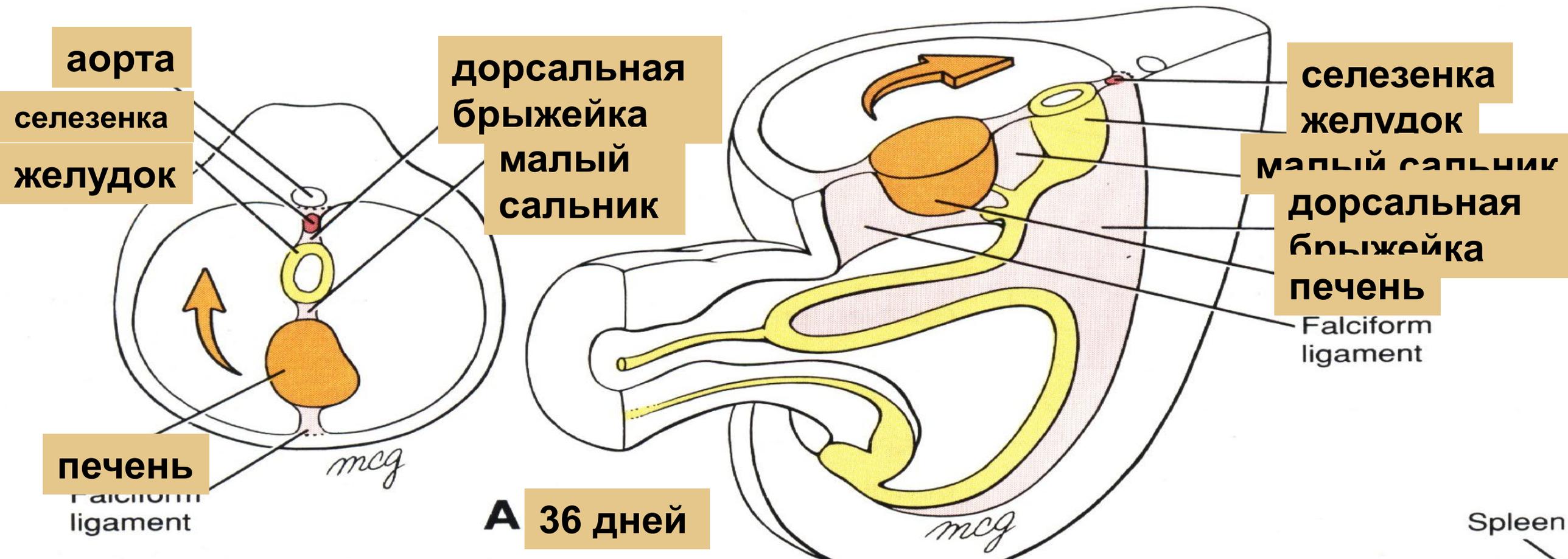
ГЕПАТО-ТИМО-ЛИЕНАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Селезенка:

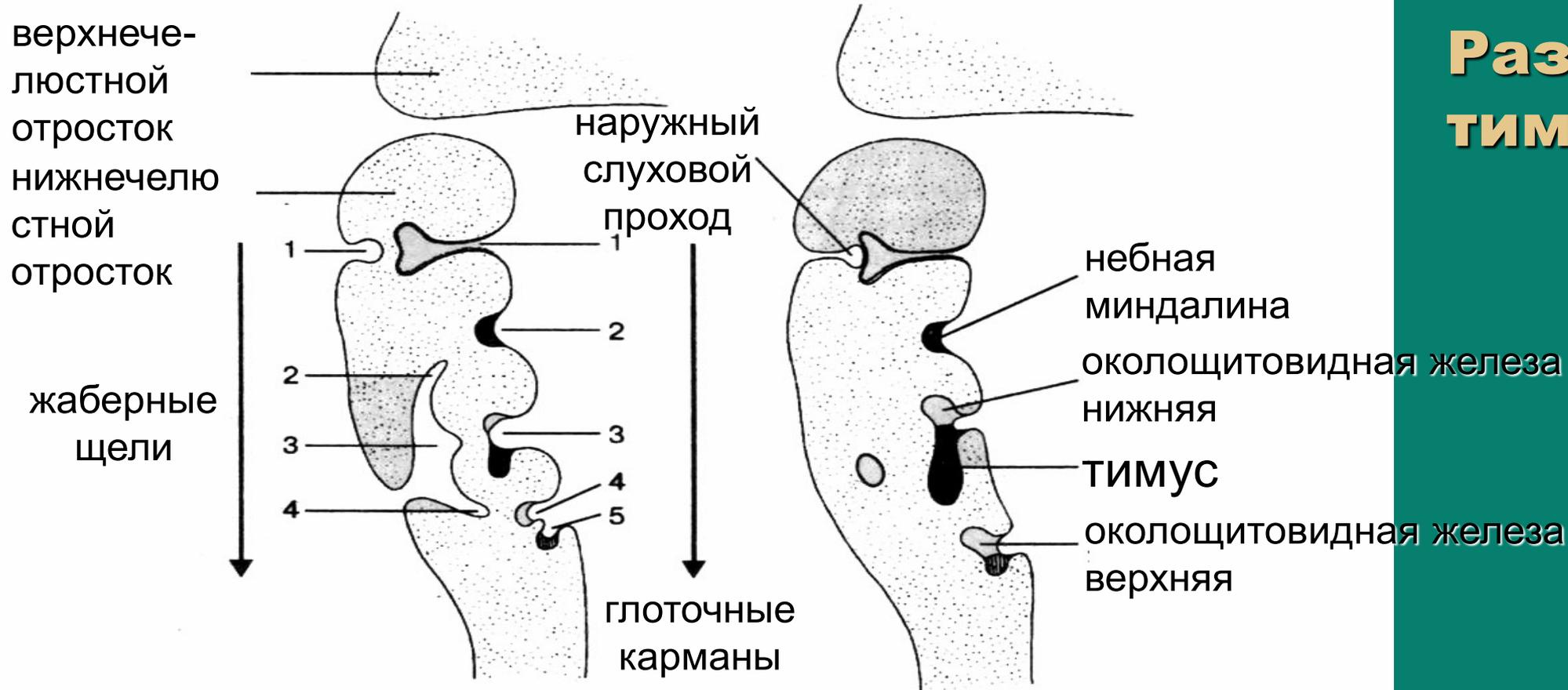
- 1) становится центром кроветворения после начала угасания гемопоэза в печени,
- 2) до 14 недели она осуществляет только миелоидное кроветворение,
- 3) С 15 по 18 недели идет переходная стадия,
- 4) С 19 по 23 недели начинается лимфоидная колонизация (заселение предшественниками Т-лимфоцитов),
- 5) С 23-ей недели появляются очаги В-лимфоцитопоэза,
- 6) наиболее активен гемопоэз с 5-го по 7-ой месяц,
- 7) до рождения здесь идет и универсальное кроветворение: миелоидное и лимфоидное (эритро-, и тромбоцито- и гранулоцитопоэз),
- 8) с 7-го месяца миелопоэз угнетается и к рождению прекращается - перед рождением здесь сохраняется лишь лимфопоэз,
- 9) лимфоидное кроветворение локализуется вокруг артериальных сосудов – оно продолжается в постнатальном онтогенезе.

Развитие селезенки

Селезенка возникает в результате конденсации мезенхимных клеток в области дорсальной брыжейки желудка на 5-ой неделе. С 15 по 18 неделю здесь формируются дольки с белой пульпой вокруг центральных артерий и красной пульпой – по периферии долек.

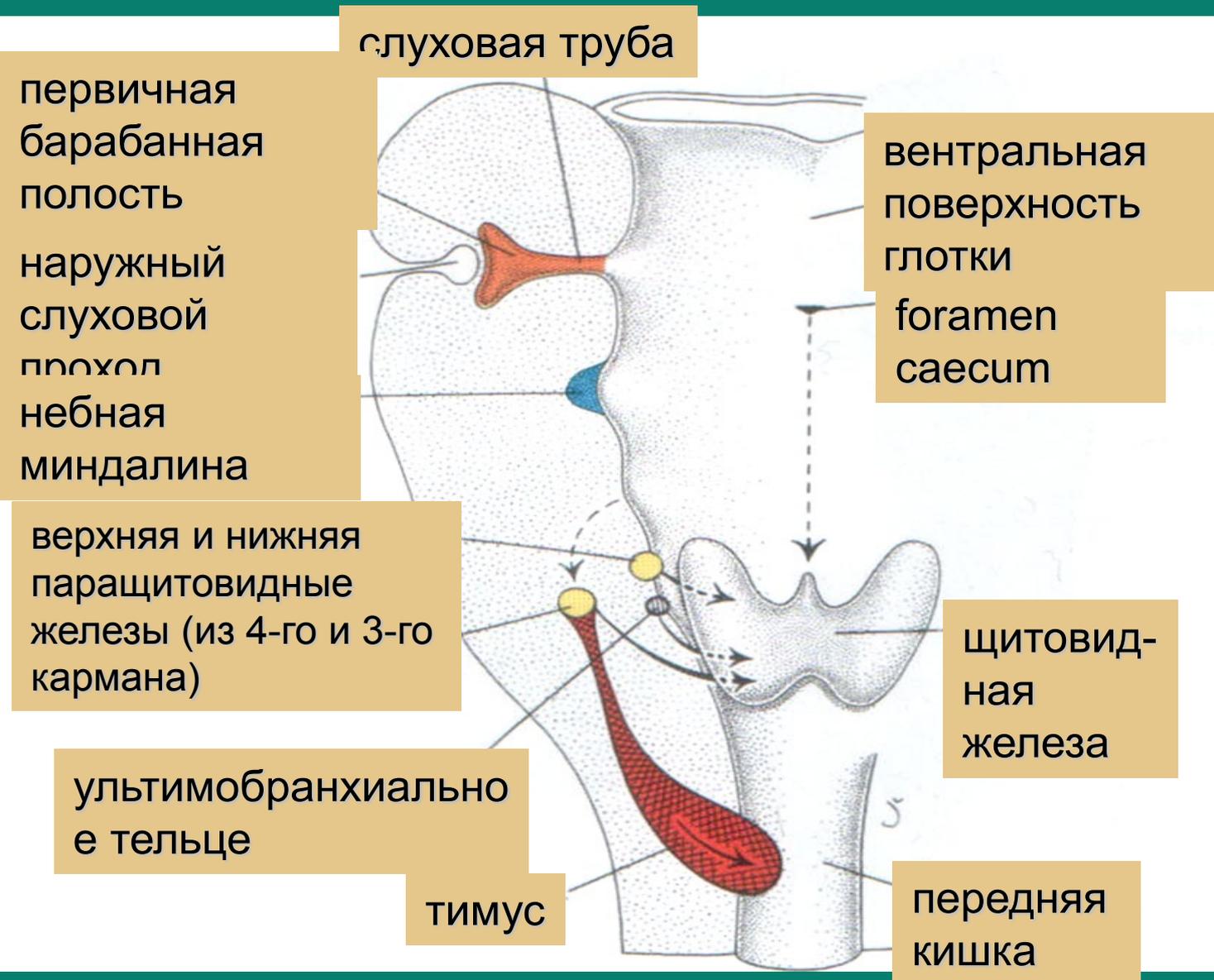


Развитие тимуса



Тимус (его эпителиальная часть) развивается из вентральной части 3-го жаберного кармана на 4-ой – 5-ой неделе. На 7-8 неделе он начинает заселяться стволовыми клетками из желточного мешка, печени и сальника, которые дифференцируются в лимфоциты. Тимус становится центральным органом лимфопоэза (Т-клеточного). (В соединительнотканых перегородках идет миелоидный гемопоэз).

Развитие тимуса



Зачаток тимуса теряет связь с кишкой и спускается вниз и медиально до своего окончательного положения в передней части грудной клетки, где происходит слияние левого и правого зачатка тимуса на 8-9-ой неделе.

Лимфатические узлы

Лимфатические узлы развиваются из внутриэмбриональной мезодермы на 8-9-ой неделе в основном в местах ветвления лимфатических сосудов. Они ответственны за лимфопоэз.

10-13 недели - появление зачатков лимфоузлов в глубокой шейной, подмышечной, аортальной и подвздошной областях

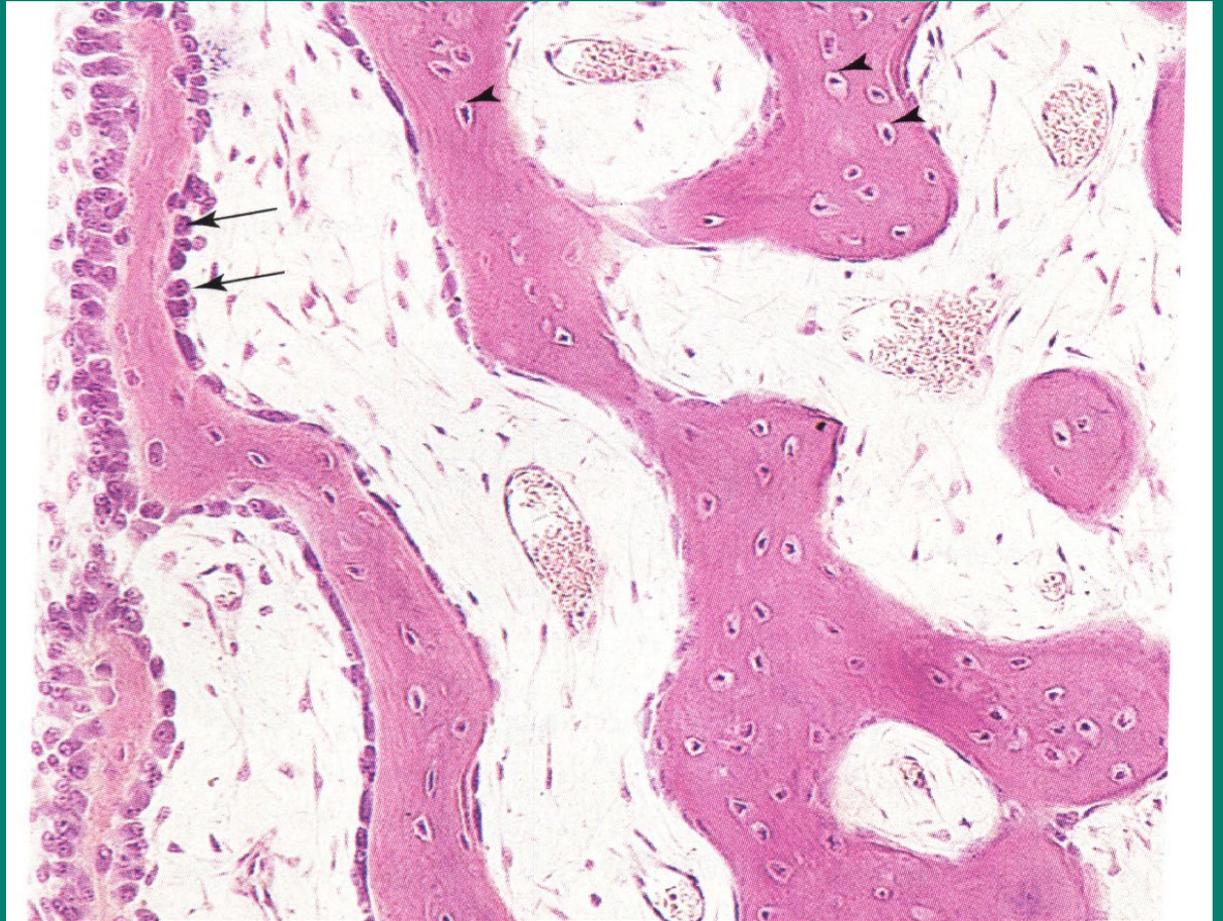
14-17 недели - образование лимфоузлов у плода, формирование их капсулы и маргинальных синусов, массовое заселение лимфоцитами, развитие трабекул

22-25 недели - выделение коркового и мозгового вещества.

МЕДУЛЛЯРНЫЙ ГЕМОПОЭЗ

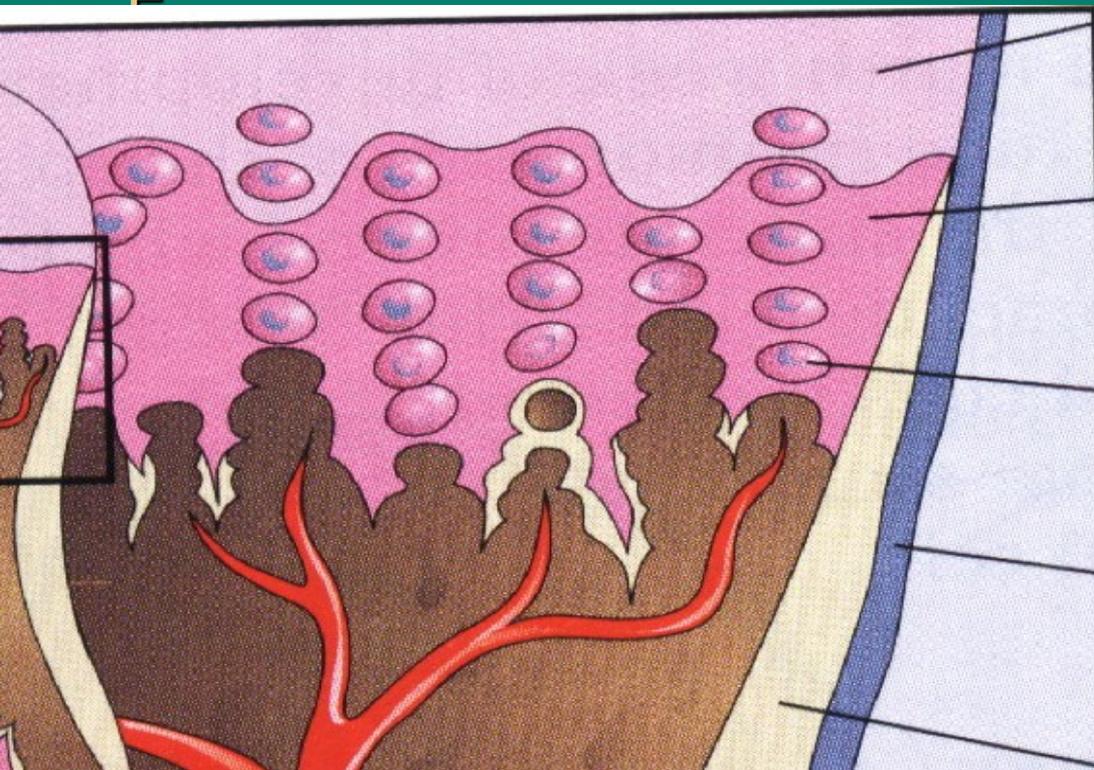
-начинается на 4-ом месяце пренатального онтогенеза,
- к 7-ому -8-ому месяцу красный костный мозг становится главным универсальным кроветворным органом (основным органом миелоидного кроветворения и, частично – лимфоидного) и выполняет свою функцию до глубокой старости.

Впервые зачаток косного мозга образуется на 12-й неделе эмбриогенеза в подключичной кости. Развитие костного мозга тесно связано с развитием костной системы. По мере образования костной ткани в ней появляются полости, за счет активности остеокластов. В эти полости вырастают кровеносные сосуды и недифференцированные мезенхимные клетки.



12 недель – образование костномозговой полости с гемопоэтическими клетками

С заменой надхрящницы на надкостницу часть клеток сосудистой соединительной ткани надкостницы мигрирует с толщу хряща, и некоторые их клетки дифференцируются в гемопоэтические. По направлению к диафизу хрящевые клетки гипертрофируются, матрикс кальцинируется, разбивается сосудистой тканью на спиккулы с формированием между ними костномозговых полостей. Таким образом, ткань красного костного мозга в пренатальном периоде локализована как в костномозговых полостях губчатой костной ткани плоских и трубчатых костей, так и костномозговых каналах трубчатых костей.



некальцинированный
гиалиновый хрящ

кальцинированн
ый гиалино-вый
хрящ

хондроцит

надкостница

костная манжетка

Первичный
центр
окостенения

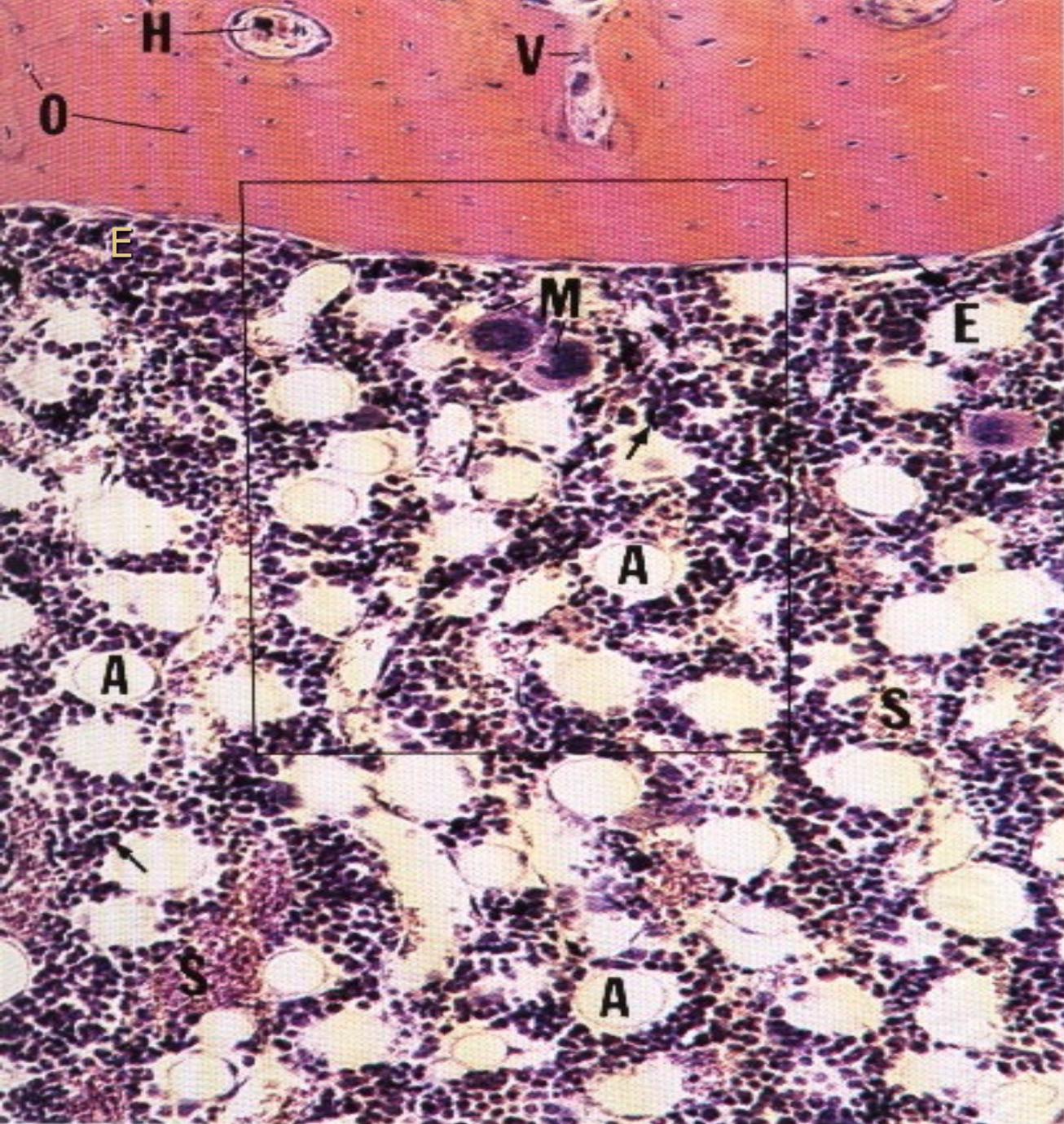
ПОСТЭМБРИОНАЛЬНЫЙ ГЕМОПОЭЗ

КОСТНЫЙ МОЗГ

- Костный мозг – желатинозная васкуляризированная соединительная ткань, находящаяся в костных полостях и заселенная клетками, участвующими в кроветворении. Эндост выстилает костные полости и состоит из остеогенных клеток, остеобластов и остеокластов. Костный мозг составляет почти 5% от общей массы тела. В нем происходит образование форменных клеток крови. Свои функции красный костный мозг выполняет от 5-го месяца пренатального развития до конца жизни. Костный мозг обеспечивает доставку форменных элементов крови в кровеносное русло, а также создает микроокружение для процессов созревания В-лимфоцитов и начальных стадий созревания Т-лимфоцитов.

- Весь костный мозг новорожденных называется красным, т. к. в нем синтезируется большое количество эритроцитов. К 20 годам в диафизах длинных трубчатых костей красный костный мозг замещается на желтый, т. к. в нем скапливается большое количество жиросодержащих клеток и процессы гемопоэза не возникают.
- Кровоснабжение костного мозга осуществляется питающими артериями, прободающими диафиз кости через отверстия. От этих артерий берут начало многочисленные ветви, кровоснабжающие как сам костный мозг, так и компактное вещество кости. Сосуды входят в кортикальную кость через систему Гаверсовых и Фолькмановых каналов.

- Центральные ветви питающих артерий доставляют кровь к широкой сети синусоидов – капиллярам синусоидного типа 45-80мкм в диаметре. Синусоиды продолжаются в центральную продольную вену, несущую кровь в вены, покидающие кость через прободающие каналы. Отмечено, что вены имеют меньший диаметр, чем артерии. Таким образом, в синусоидах устанавливается высокое гидростатическое давление, что предотвращает коллапс их стенок. Вены, артерии и синусоиды образуют **сосудистый компартмент** костного мозга, а совокупность гемопозитических островков объединены понятием **гемопозитического компартмента** красного костного мозга.



Костный мозг человека. x132.
На поперечном разрезе декальцированной реберной кости видны Гаверсовы каналы (H), Фолькмановы каналы (V), в лакунах остеониты (O), а также эндост (E). Красный костный мозг представлен многочисленными адвентициальными ретикулярными клетками (A), кровеносными сосудами, синусоидами (S). Видны дифференцирующиеся клетки крови (стрелка), а также большие мегакарициты, которые являются предшественниками тромбоцитов.

Figure 1

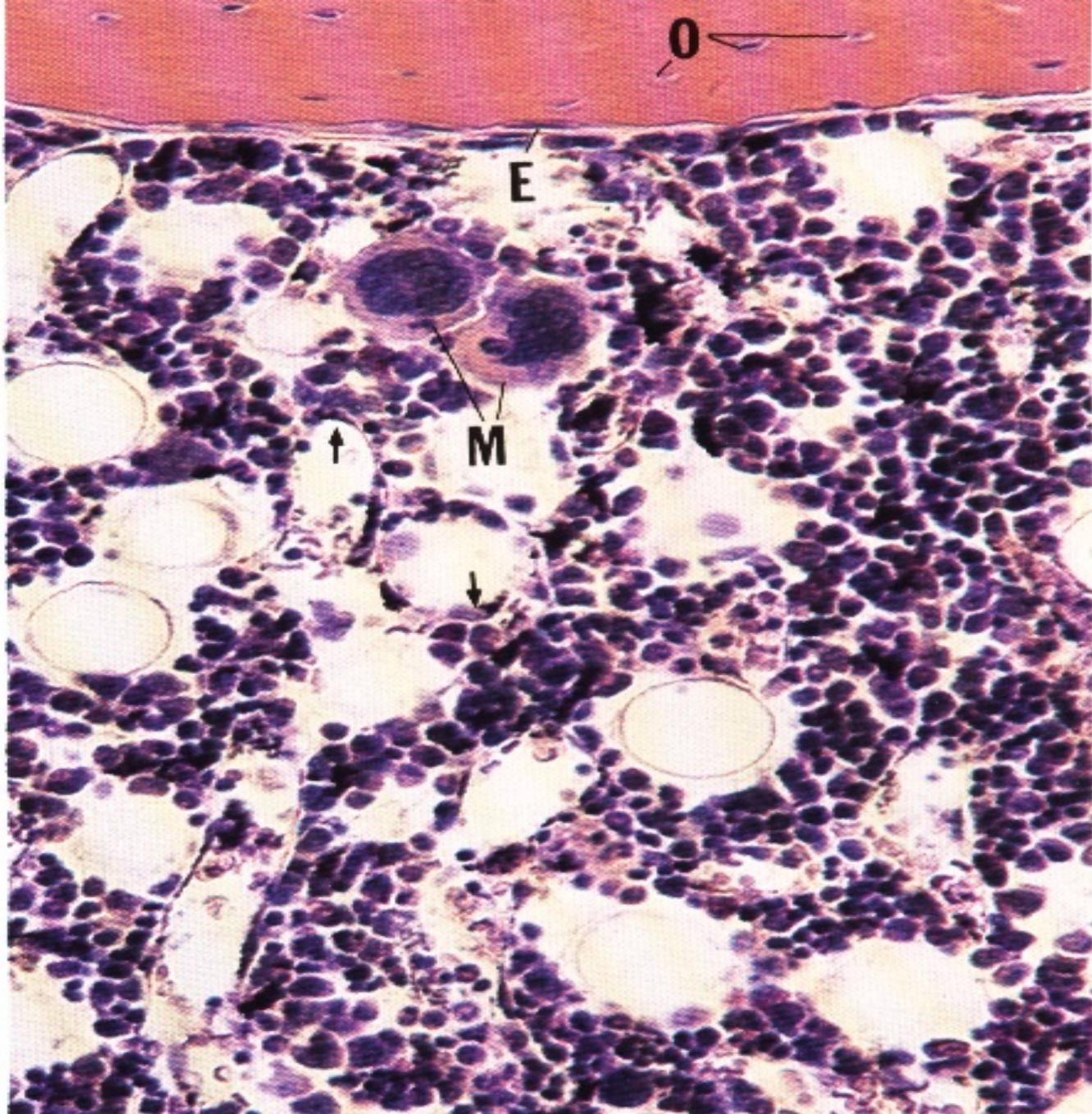
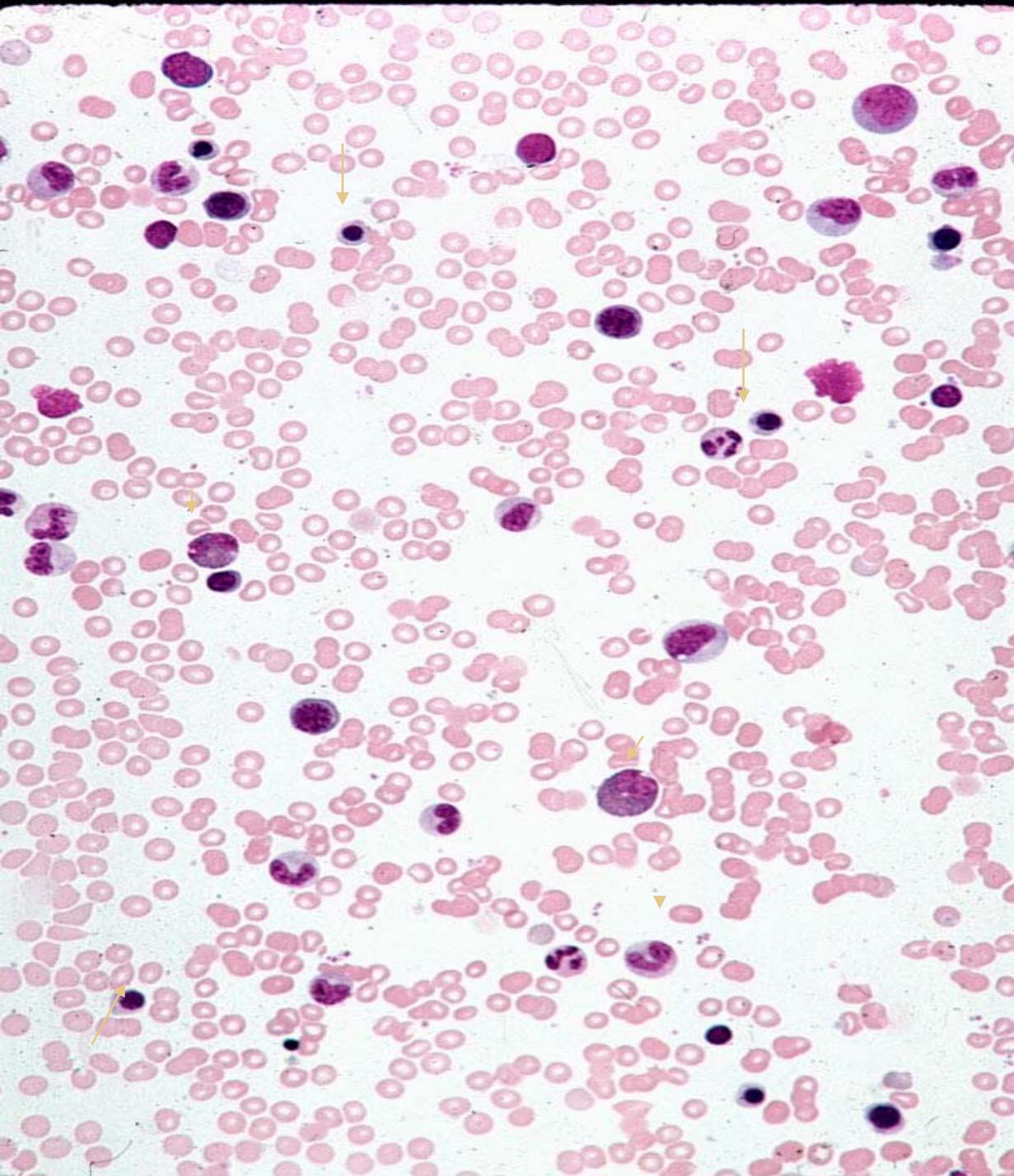


Figure 2

Костный мозг человека.
Х270.

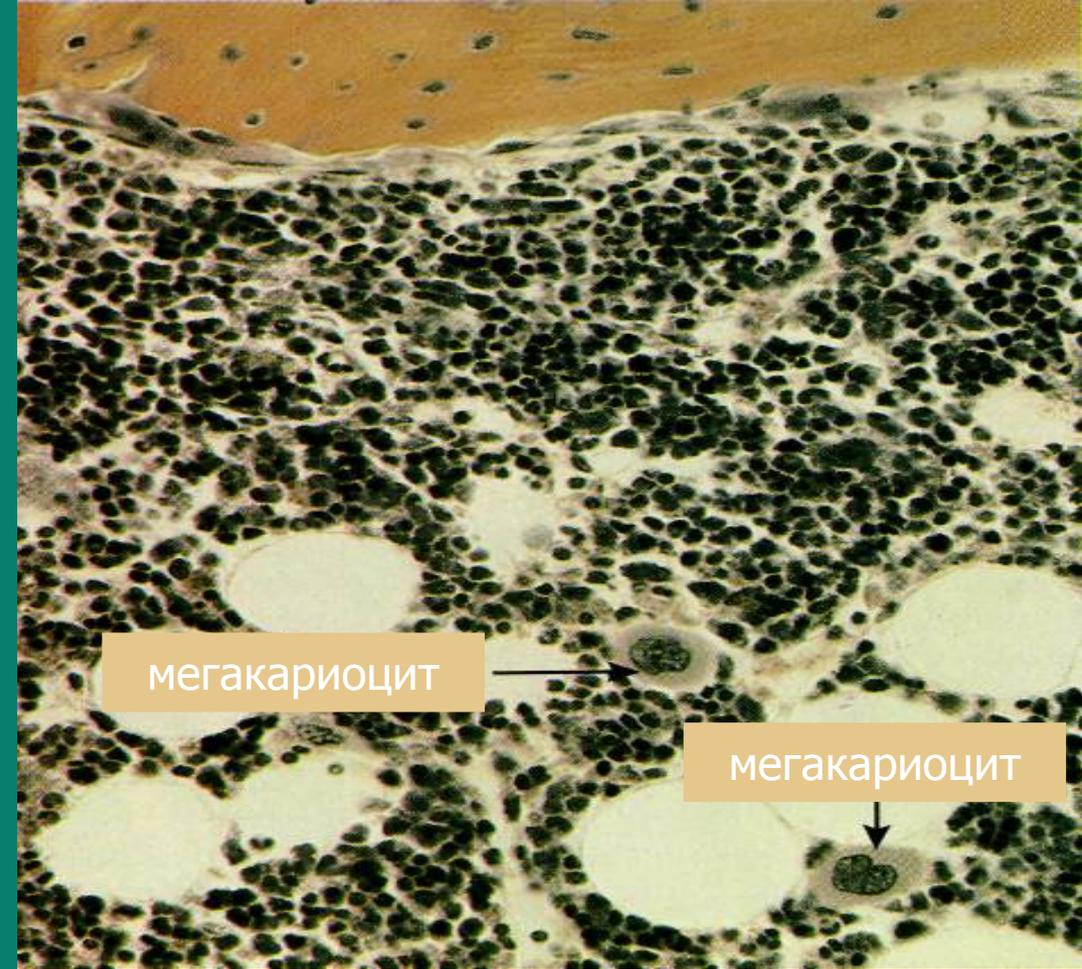
На микрофотографии изображены остеоциты в лакунах, плоские клетки эндоста. Стенка синусоидов образована плоскими клетками эндотелия (стрелка). Вокруг многочисленные клетки, находящиеся в процессе созревания.



Мазок красного костного мозга человека. x 270.

Нормальный мазок костного мозга, в котором видны дифференцирующиеся клетки крови и тромбоциты. Если сравнить с нормальным мазком периферической крови, то видно явное преобладание ядросодержащих клеточных элементов.

Мегакариоциты. Костный мозг человека. x270



Синусоиды выстланы эндотелиальными клетками и окружены сетью ретикулярных волокон и большим количеством адвентициальных ретикулярных клеток. Одни отростки ретикулярных клеток вплетаются в базальную мембрану, на которой лежат эндотелиальные клетки, другие отростки адвентициальных ретикулярных клеток вступают в контакт друг с другом, образуя трехмерную сеть, которая окружает отдельные гемопоэтические островки.

- Гемопоэтические островки образованы макрофагами, окруженными клетками крови, находящимися на различных стадиях созревания. Макрофаги разрушают вытолканные ядра из предшественников эритроцитов, неполноценные эритроциты и излишки их цитоплазмы. Отростки макрофагов проникают между эндотелиальными клетками в просвет синусоидов.
- Так как адвентициальные ретикулярные клетки аккумулируют жир в своей цитоплазме, то они напоминают адипоциты (жировые клетки). Увеличение их количества уменьшает объем гемопоэтического компартмента, трансформируя красный костный мозг в желтый костный мозг.

Клинические корреляции

- В некоторых случаях лейкемии и при тяжелых кровотечениях адвентициальные ретикулярные клетки могут терять жир, уменьшаться в размерах, трансформируя желтый костный мозг в красный, и обеспечивая больший объем гемопоэтического пространства.

Коммитирование, детерминация, дифференцировка.

- Коммитирование – ограничение потенций развития
- Детерминация – выбор направления развития кроветворных клеток
- Дифференцировка – приобретение специфических структурных и функциональных признаков

- **Дифференцировка** — это стойкое структурно-функциональное преобразование клеток в различные специализированные клетки. Дифференцировка клеток биохимически связана с синтезом специфических белков, а цитологически — с образованием специальных органелл и включений. При дифференцировке клеток происходит избирательная активация генов. Важным показателем клеточной дифференцировки является сдвиг ядерно-цитоплазменного отношения в сторону преобладания размеров цитоплазмы над размером ядра. Дифференцировка происходит на всех этапах онтогенеза. Особенно отчетливо выражены процессы дифференциации клеток на этапе развития тканей из материала эмбриональных зачатков. Специализация клеток обусловлена их детерминацией.

- **Детерминация** — это процесс определения пути, направления, программы развития материала эмбриональных зачатков с образованием специализированных тканей. Детерминация может быть оотипической (программирующей развитие из яйцеклетки и зиготы организма в целом), зачатковой (программирующей развитие органов или систем, возникающих из эмбриональных зачатков), тканевой (программирующей развитие данной специализированной ткани) и клеточной (программирующей дифференцировку конкретных клеток).

Различают детерминацию:

- 1) лабильную, неустойчивую, обратимую
- 2) стабильную, устойчивую и необратимую.

При детерминации тканевых клеток происходит стойкое закрепление их свойств, вследствие чего ткани теряют способность к взаимному превращению (метаплазии). Механизм детерминации связан со стойкими изменениями процессов репрессии (блокирования) и экспрессии (деблокирования) различных генов.

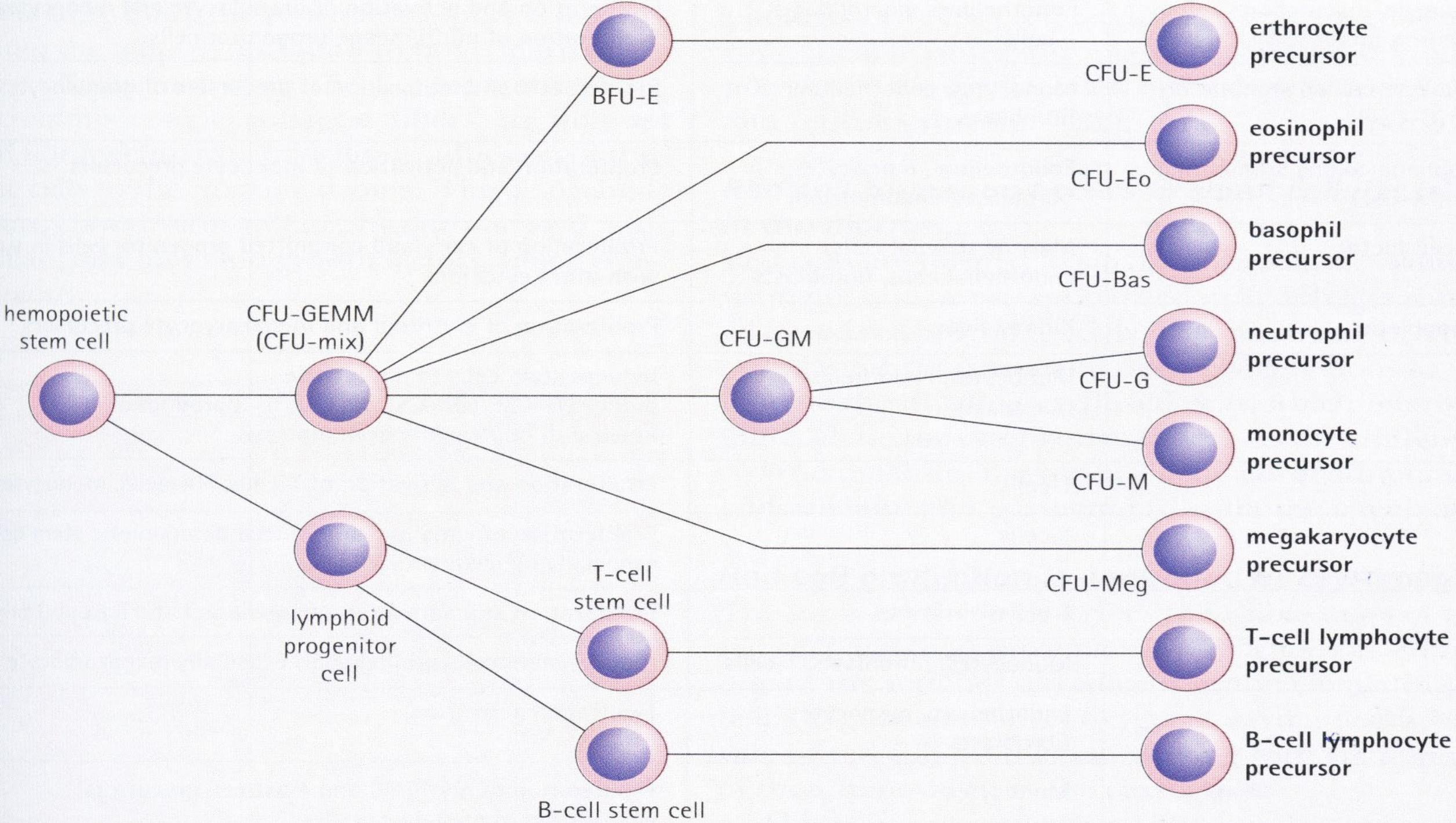
1. Плюрипотентные стволовые клетки крови.

2. Родоначальные частично детерминированные полипотентные клетки крови (полустволовые, Progenitor Cells).

3. Унипотентные (коммитированные родоначальные клетки).

Унитарная теория кроветворения предусматривает, что родоначальница всех форменных элементов крови является стволовая кроветворная клетка (СКК). Эта клетка мезенхимного происхождения, делится редко и дает начало всем форменным элементам крови. Часть СКК циркулирует в периферической крови и имеет сходство с малыми лимфоцитами. СКК дифференцируется в полипотентные клетки, а те, в свою очередь, в унипотентные.

•Количество стволовых клеток крови составляет примерно 0.1% от всех ядродержащих клеток в костном мозге. Потомки стволовой клетки крови – две популяции клеток: полипотентные частично детерминированные полустволовые клетки-предшественницы лимфопоэза (КОЕ-Л) и миелопоэза (КОЕ-ГЭММ, КОЕ-С). КОЕ-ГЭММ дает начало линиям дифференцировки эритроцитов, гранулоцитов, моноцитов, мегакариоцитов. КОЕ-Л дает начало двум линиям дифференцировки – Т-лимфоцитам и В-лимфоцитам. Обе полустволовые клетки напоминают лимфоциты и образуют совсем небольшую фракцию клеток в циркулирующей крови.



Классы гематopoэтических клеток

На основании способности к самообновлению, клеточному делению и образованию форменных элементов различных типов, кроветворные клетки можно разделить на 6 классов.

1. СКК – Плюрипотентные стволовые клетки, которые могут образовывать любые форменные элементы, способны к самообновлению;
2. Частично детерминированные поли- или мультипотентные родоначальные клетки (полустволовые). Развиваются из СКК, способны к ограниченному самоподдержанию, прошли первый этап коммитирования, т.е. дают начало форменным элементам нескольких видов; включают родоначальную клетку лимфоцитопоэза (КОЕ-Л) и родоначальную клетку миелопоэза (КОЕ-ГЭММ);

Классы гематopoэтических клеток

3. Унипотентные (коммитированные) родоначальные клетки, прошедшие еще один этап коммитирования и детерминированные в направлении развития только одного вида форменных элементов (за исключением КОЕ-ГМ). Они обладают низким потенциалом самоподдержания, неидентифицируются морфологически и внешне сходны с малыми лимфоцитами. Унипотентные родоначальные клетки включают:
1. Родоначальные клетки эритроцитов – БОЭ-Э – бурст-образующая единица и развивающаяся из нее КОЭ-Э;
 2. КОЕ-Мег – родоначальная клетка мегакариоцитов;
 3. КОЕ-ГМ – родоначальная клетка гранулоцитов (нейтрофильных) и моноцитов, дающая КОЕ-Г(Н) – родоначальную клетку гранулоцитов (нейтрофилов) и КОЕ-Мо – родоначальную клетку моноцитов;
 4. КОЕ-Баз – родоначальная клетка базофилов;
 5. КОЕ-Эо – родоначальная клетка эозинофилов;
 6. Коммитированные клетки лимфопоэза – про-В-лимфоциты и протимоциты.

Классы гематopoэтических клеток

4. Морфологически распознаваемые предшественники – бластные формы. Представляют отдельные линии развития форменных элементов. Пролиферативная активность ограничена, способностью к самоподдержанию не обладают. Клетки можно идентифицировать при использовании стандартных гематологических методов окраски. Бластные формы всегда имеют вид крупных клеток с базофильной цитоплазмой, светлым ядром и ядрышками.
5. Созревающие (дифференцирующиеся) клетки подвергаются структурно-функциональной дифференцировке, приобретают соответствующий вид форменных элементов, утрачивают способность к делению.
6. Зрелые (дифференцированные) форменные элементы, циркулирующие в крови. Не способны к делению (за исключением лимфоцитов и моноцитов).



Проэрит-
робласт

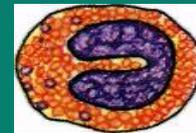
Базофильный
эритробласт

Полихромото-
фильный
эритробласт

Орто-
хромото-
фильный
эритробласт

Ретикулоцит

Эритроцит

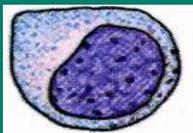
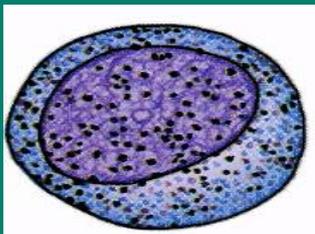
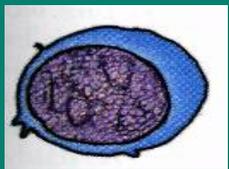


Эозинофильный
миелоцит

Эозинофильный
метаиелоцит

Эозинофильный
гранулоцит

Эозинофил



Миелобласт

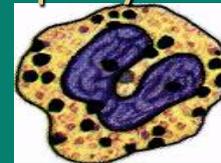
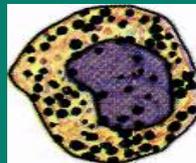
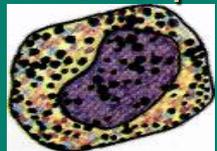
Промиелоцит

Нейтрофильный
миелоцит

Нейтрофильный
метаиелоцит

Нейтрофильный
гранулоцит

Нейтрофил



Базофильный
миелоцит

Базофильный
метаиелоцит

Базофильный
гранулоцит

Базофил

Гемопоэтические факторы роста (колониестимулирующие факторы)

Гемопоэз регулируется цитокинами и факторами роста, такими как интерлейкины, колониестимулирующие факторы, фактор стволовых клеток, макрофагический ингибирующий белок. Каждый из этих факторов действует на стволовые клетки, полустволовые клетки и унипотентные колониеобразующие единицы, стимулируя митоз, дифференцировку, или то и другое. Некоторые из этих факторов обеспечивают функционирование зрелых форменных элементов. В основном гемопоэтические факторы роста по своему химическому строению относятся к гликопротеинам.

Клинические корреляции.

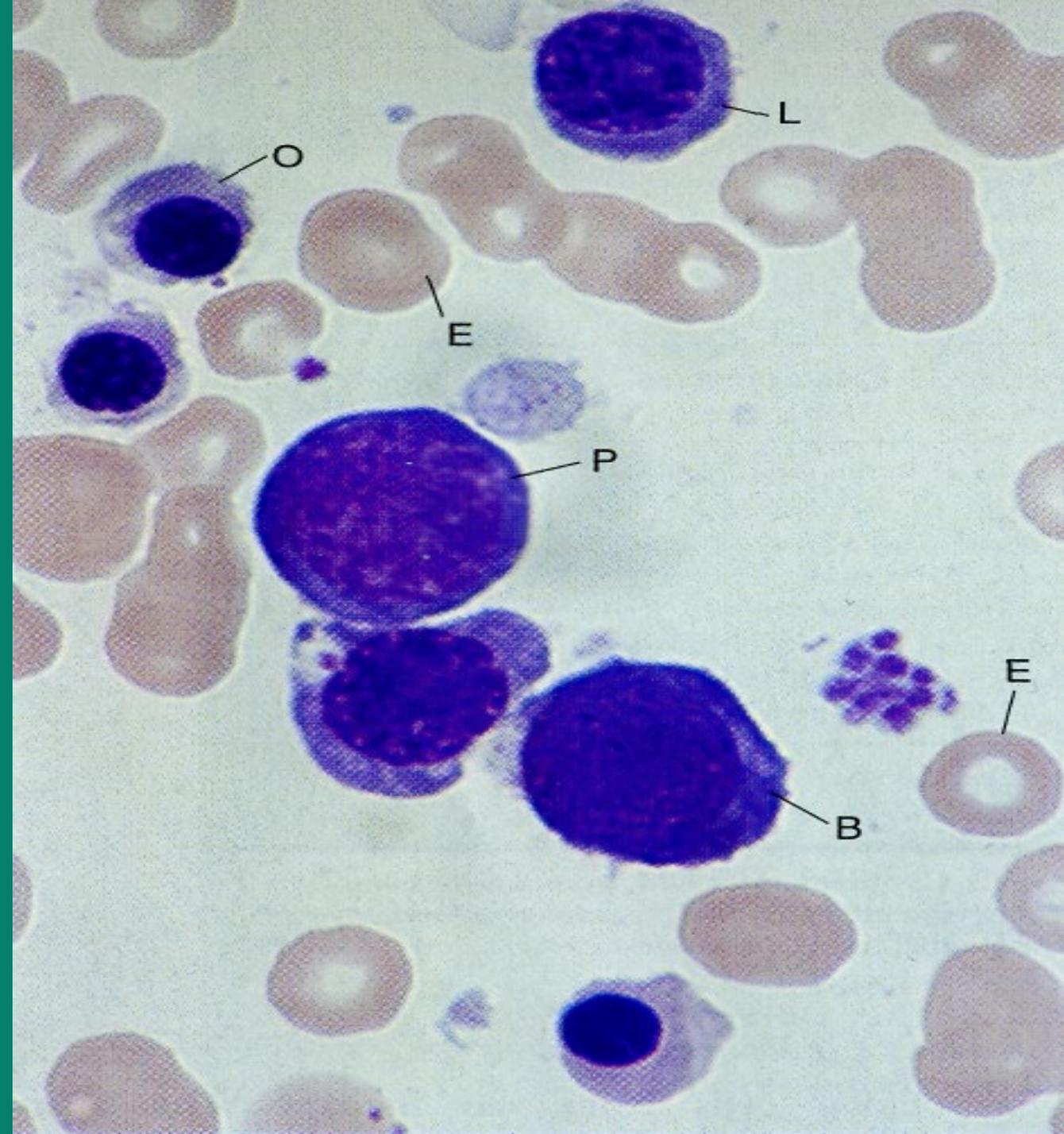
- Патологическое повышение секреции эритропоэтина может вызвать вторичную полицитемию – повышение общего количества эритроцитов, повышающих вязкость крови и ухудшающую реологические свойства крови. Такое состояние обычно вызвано опухолью эритропоэтин-секретирующих клеток. Больные могут иметь до 10 миллионов эритроцитов в 1 мл.

Эритропоэз

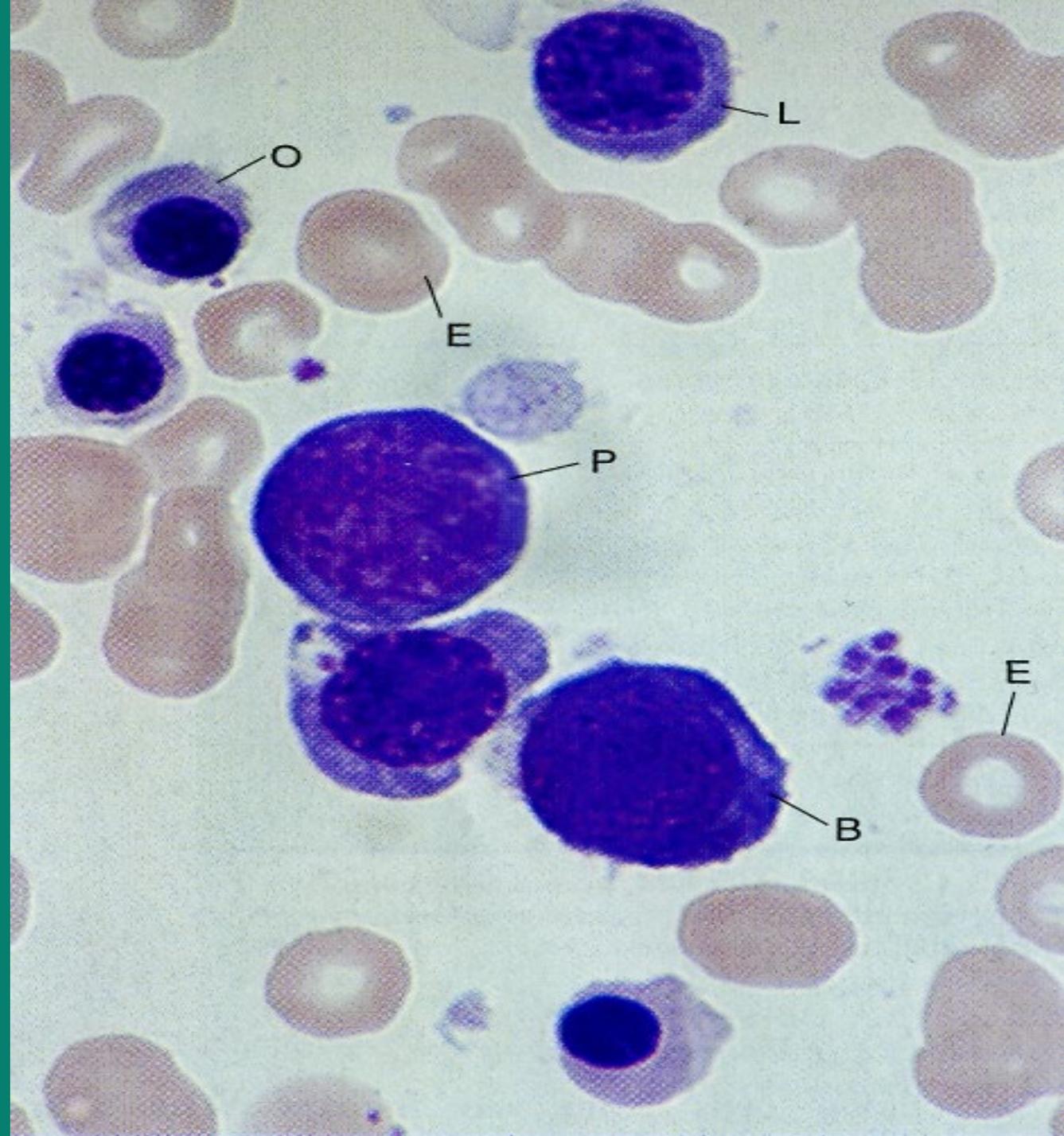
- Эритропоэз, процесс образования и дифференцировки красных кровяных клеток, контролируется определенными цитокинами – интерлейкином-3, интерлейкином-9, колониестимулирующим фактором гранулоцитов и макрофагов и эритропоэтином.
- Ежедневно в результате эритропоэза образуется $2,5 \times 10^{11}$ красных кровяных клеток. Чтобы образовать такое огромное количество эритроцитов, полипотентная клетка-предшественница миелопоэза дифференцируется в унипотентные комиттированные клетки: бурст-образующую единицу (BFU-E) и колониеобразующую единицу эритроцитов (CFU-E).

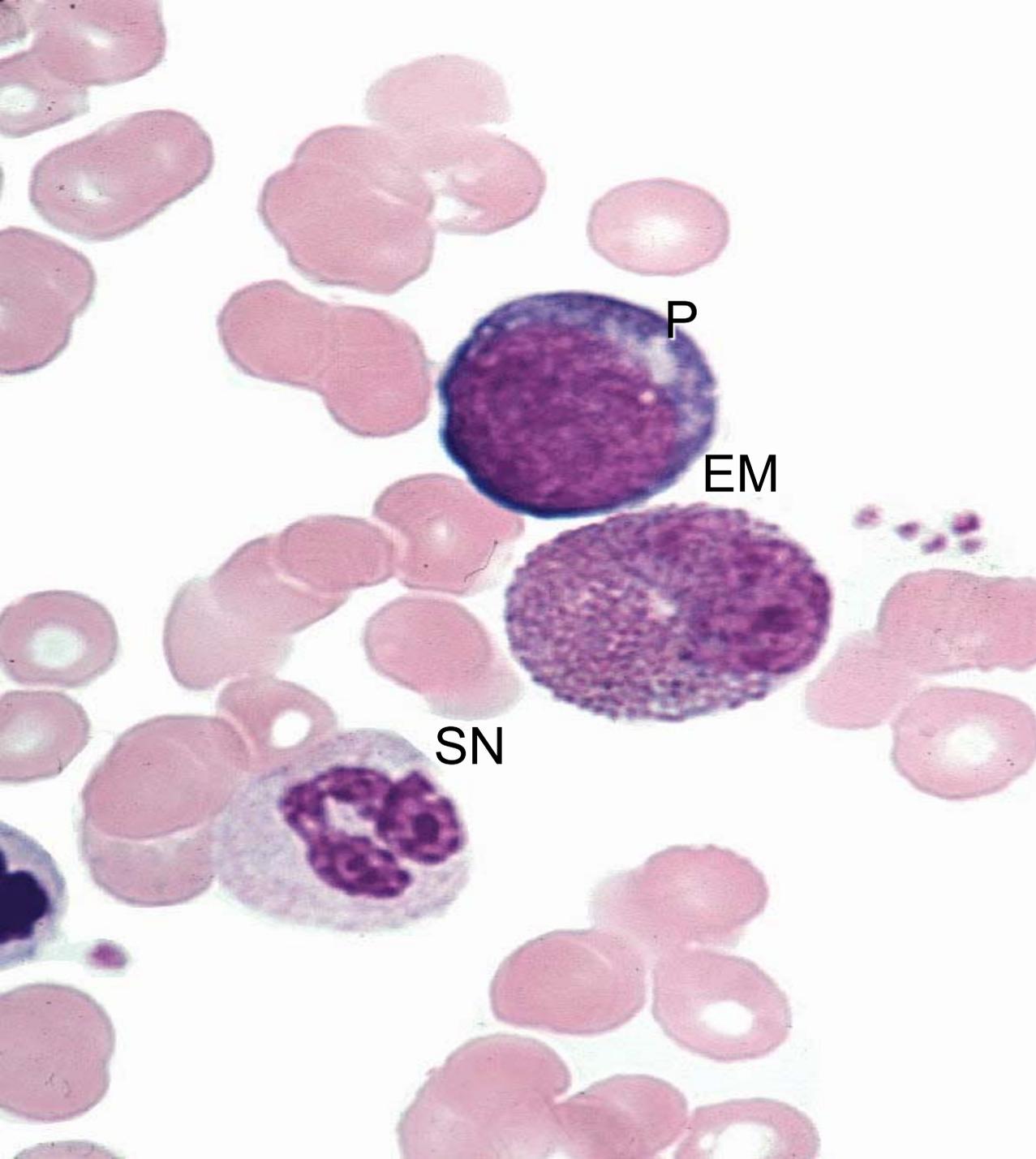
Различные стадии развития эритроцитов. P, проэритробласт; В, базофильный эритробласт; L, полихроматофильный эритробласт; O, ортохроматофильный эритробласт; E, эритроцит (X1325).

Если содержание красных кровяных клеток в периферической крови низкое, то почки синтезируют большее количество эритропоэтина, который в присутствии интерлейкина-3, интерлейкина-9 и колониестимулирующего фактора гранулоцитов и моноцитов (GM-CSF), а также steel factor, стимулирует дифференцировку стволовой клетки крови (СКК) в бурс-образующую единицу (BFU-E), которая подвергается «взрыву» митотической активности, образуя большое количество колониобразующей единицы эритроцитов.



Пролиферация и дифференцировка CFU-E зависят от эритропоэтина. Проэритробласты — первые морфологически опознаваемые предшественники эритроцитов. Проэритробласты и их предшественники образуют эритробластические островки вокруг макрофагов (клеток-няnek), которые фагоцитируют вытолканные ядра и излишки цитоплазмы из дифференцирующихся эритроцитов. Клетки-няньки синтезируют также факторы роста для поддержания процессов гемопоэза.

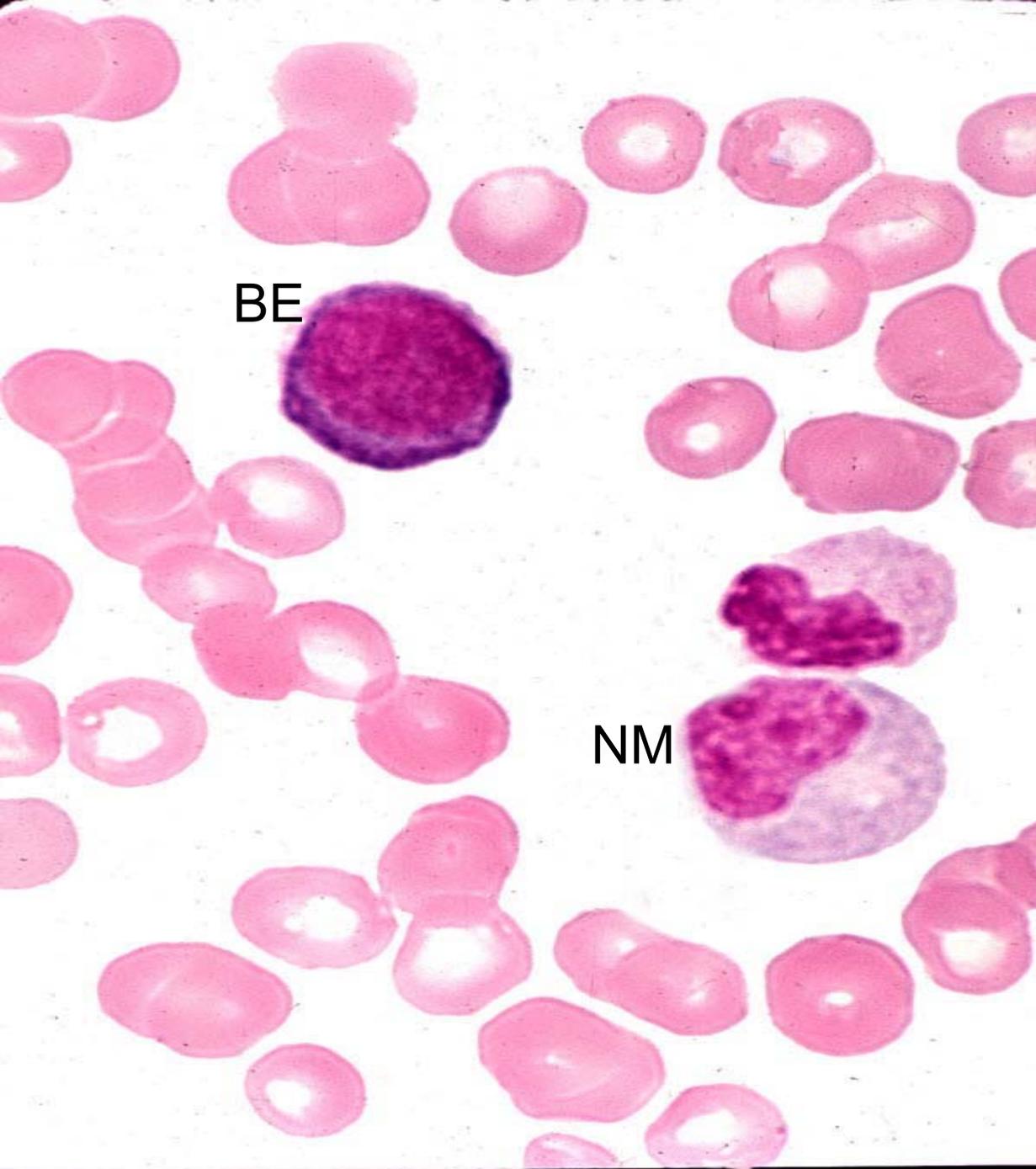




Проэритробласт.

Мазок красного костного мозга.
x 1325.

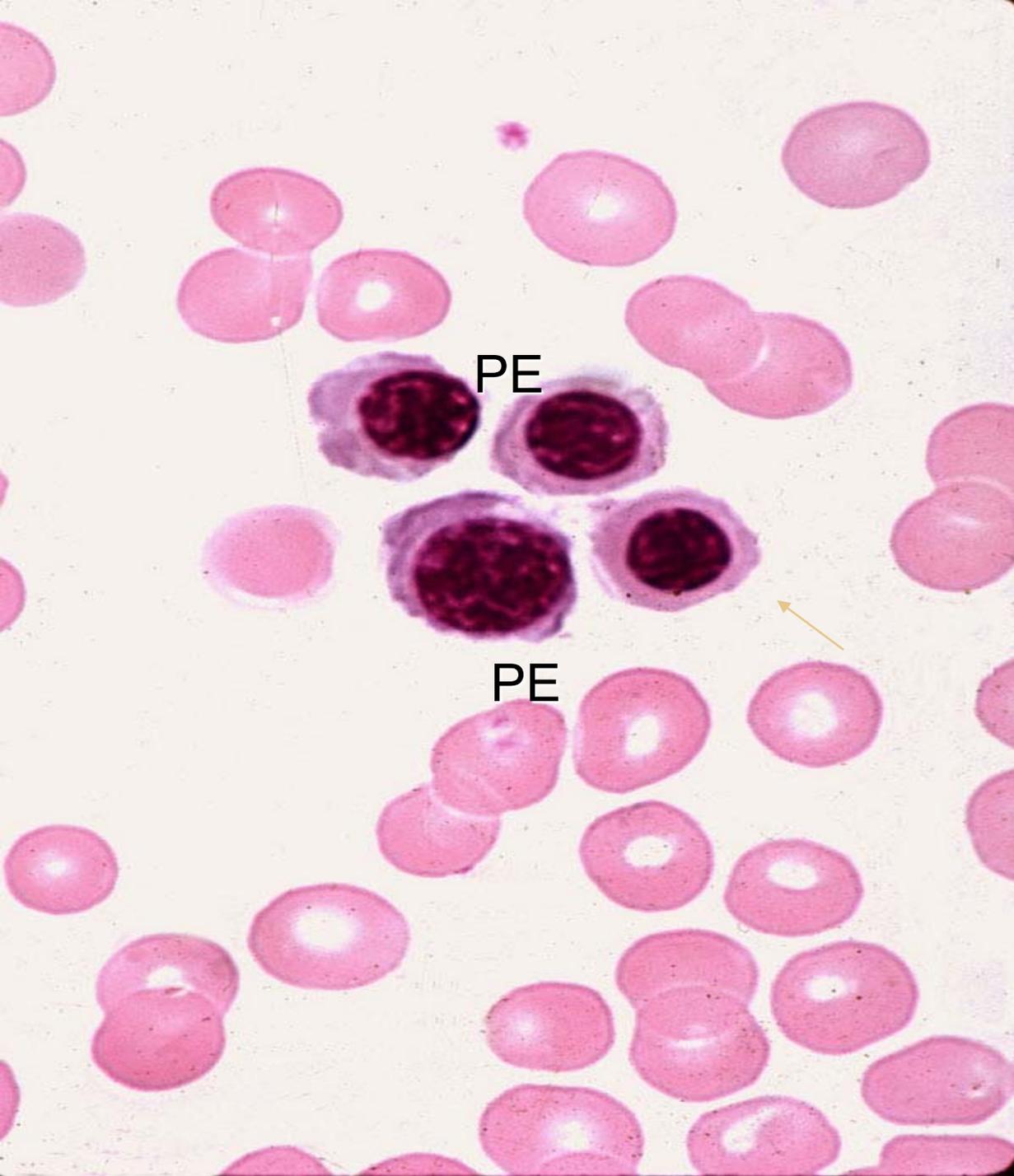
Цитоплазма проэритробласта (P) светло-голубая, глыбчатая. Ядро круглое, содержит нежную хроматиновую сеть с ядрышками. В мазке также видны эозинофильный метамиелоцит (EM) и палочкоядерный нейтрофил (SN).



Базофильный эритробласт (BE).

Мазок красного костного мозга человека. x 1325.

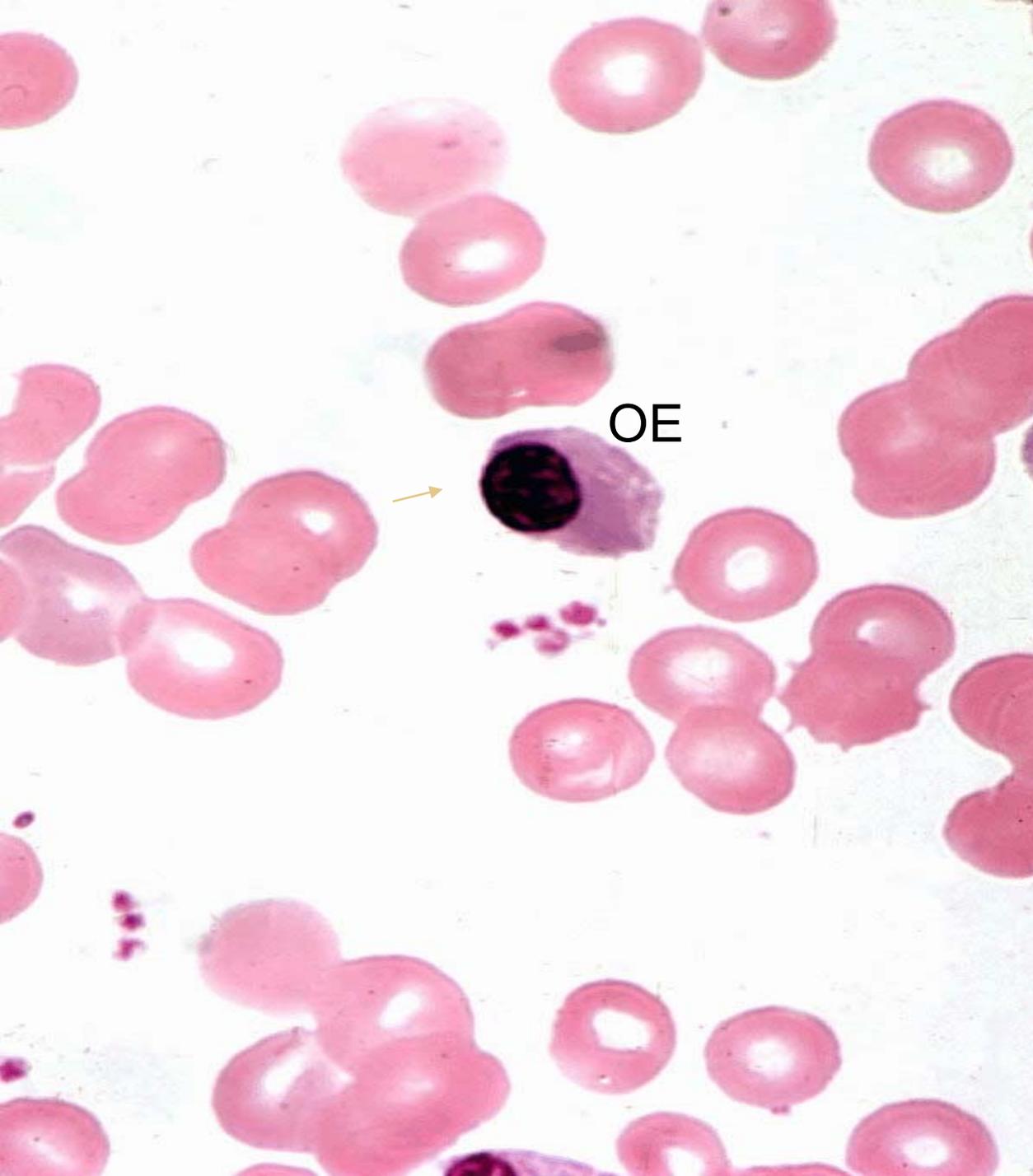
Цитоплазма серовато-розовая с голубоватыми скоплениями, ядро круглое красновато-розовое, нежная хроматиновая сеть в нем. В мазке также виден нейтрофильный метаиелоцит (NM).



Полихроматофильный эритробласт.

Мазок красного костного мозга. х 1325.

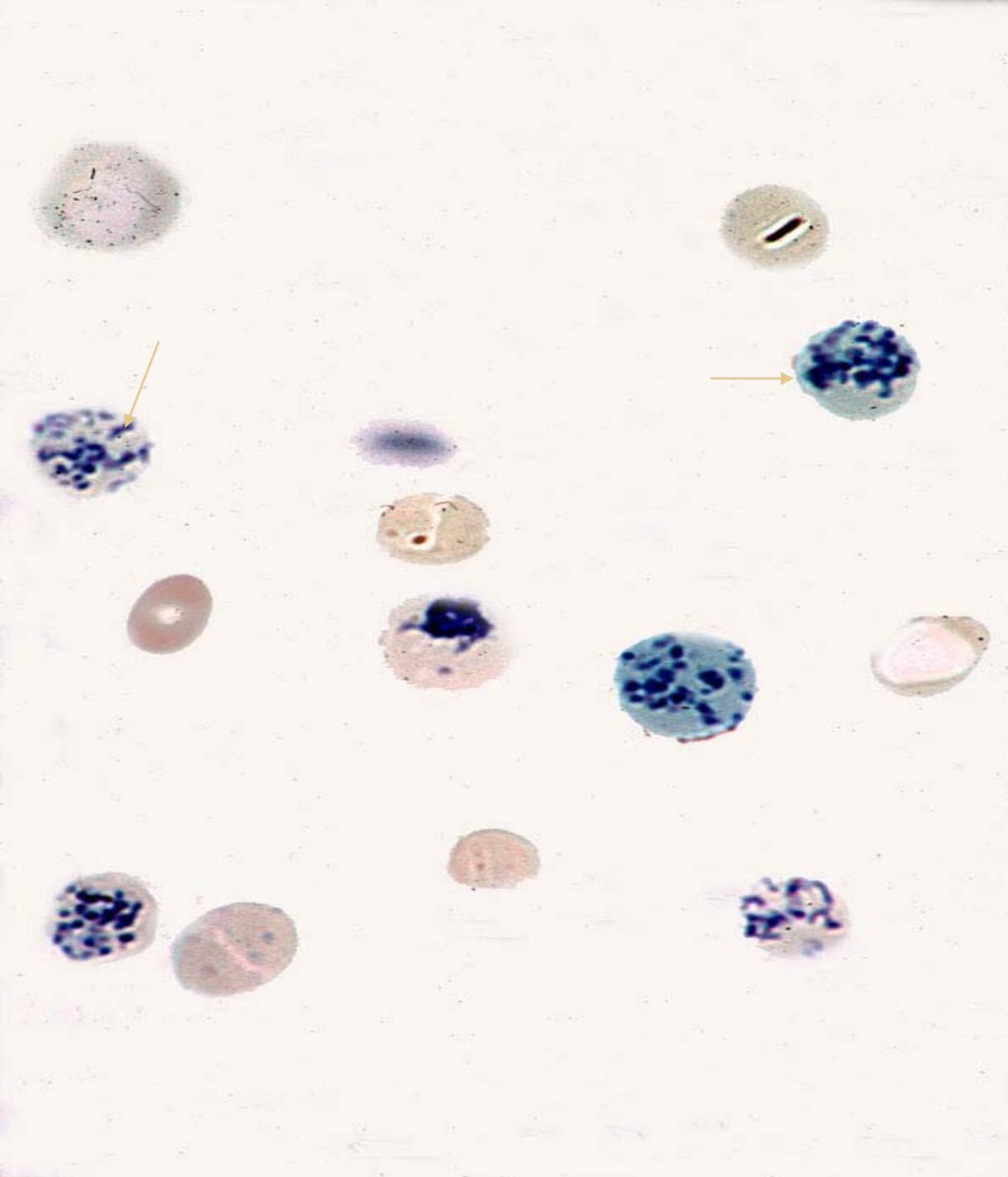
Цитоплазма полихроматофильного эритробласта розовая с голубым оттенком. Ядро красного цвета, круглое, маленькое. Сеть хроматина грубее, ядрышки отсутствуют.



Ортохроматофильный эритробласт.

Мазок красного костного мозга человека. x 1325.

Цитоплазма розоватая с голубым оттенком. Ядро округлое, темное, конденсированное, в процессе выталкивания. Вокруг большое количество зрелых эритроцитов, а также скопление тромбоцитов (кровяных пластинок).



Ретикулоцит.

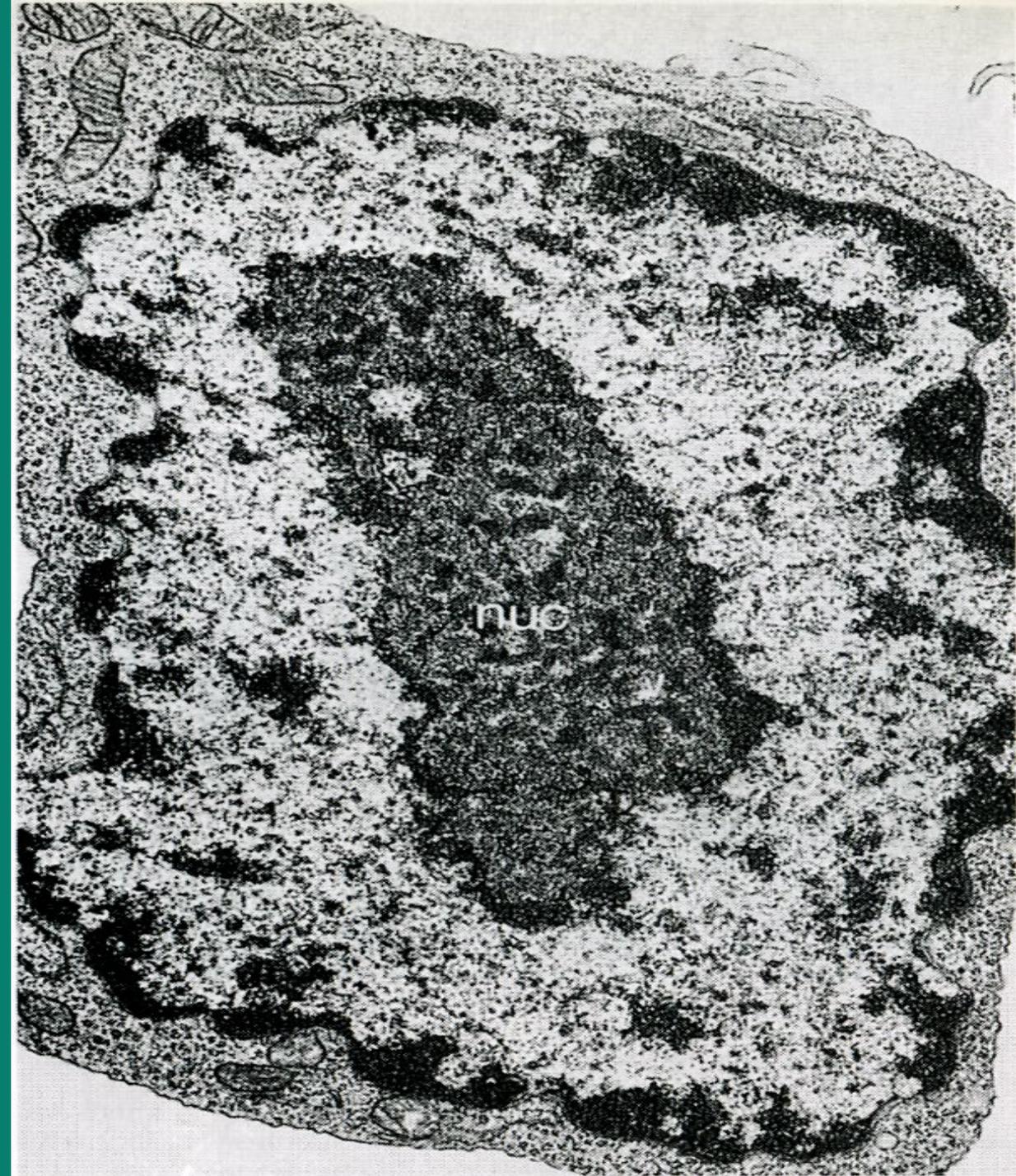
Мазок красного костного мозга человека. x 1325.

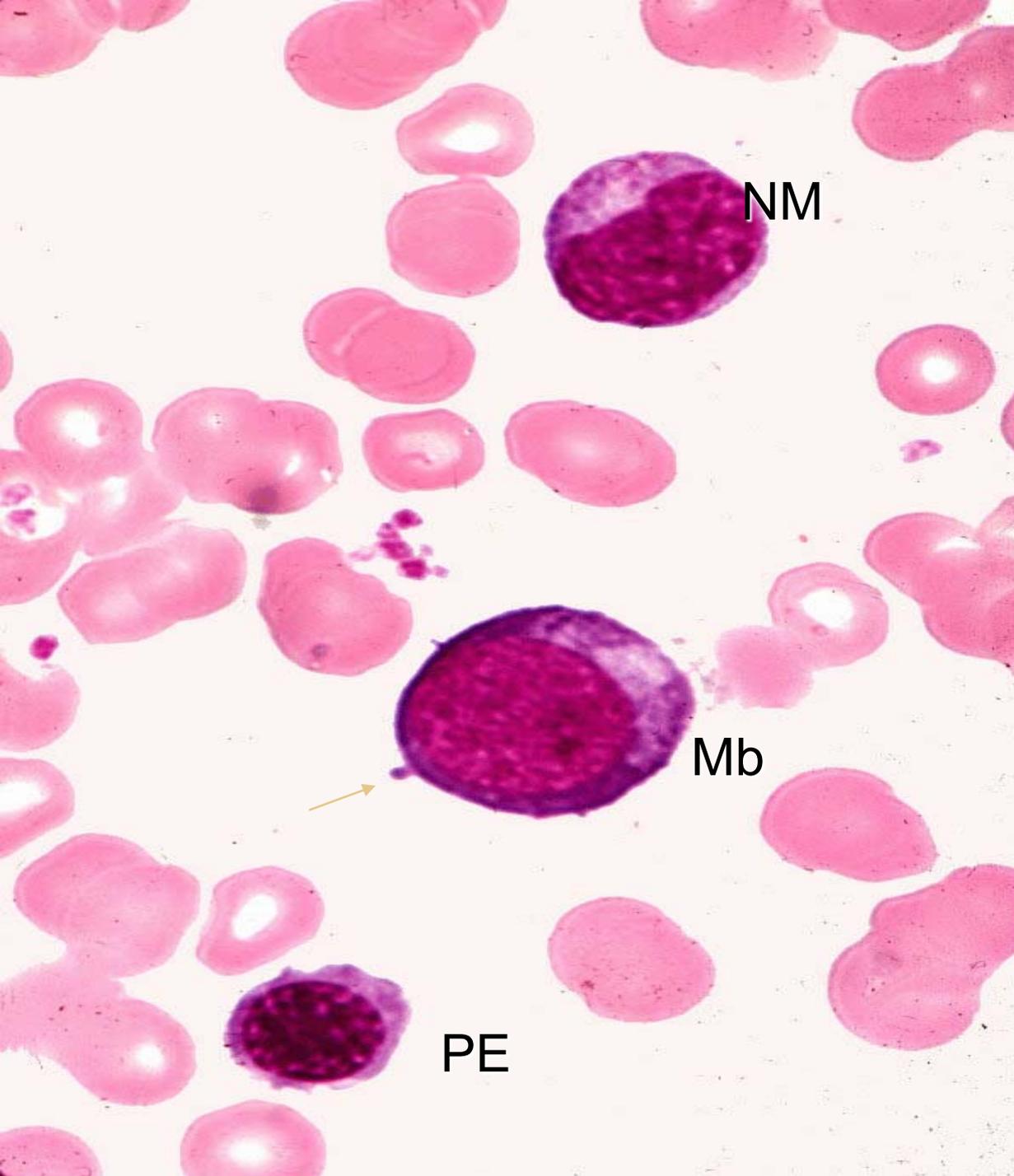
Цитоплазма похожа на нормальный эритроцит. При суправитальной окраске метиленовым синим выявляется голубоватая сеть, состоящая в основном из мембран гранулярной эндоплазматической сети. Ядро отсутствует.

МОНОЦИТОПОЭЗ

- Моноцитопоз – процесс образования моноцита – происходит в красном костном мозге и описывается последовательностью 6 СКК – КОЕ-ГЭММ – КОЭ-ГМ – КОЕ-М – монобласт – промоноцит – моноцит.
- Моноцит – крупная клетка с большим, слегка вогнутым ядром, в котором 1-2 ядрышка. Цитоплазма базофильна, содержит все основные органеллы и незрелые азурофильные гранулы. Промоноциты делятся и постепенно дифференцируются в моноциты. Процесс сопровождается увеличением размеров клетки, снижением базофилии, изменением формы ядра (становится бобовидным), накоплением и созреванием азурофильных гранул. Моноциты, выйдя в кровеносное русло, через 1-2 дня мигрируют в ткани, где они превращаются в различные виды макрофагов, а также в дендритные антиген-представляющие клетки.

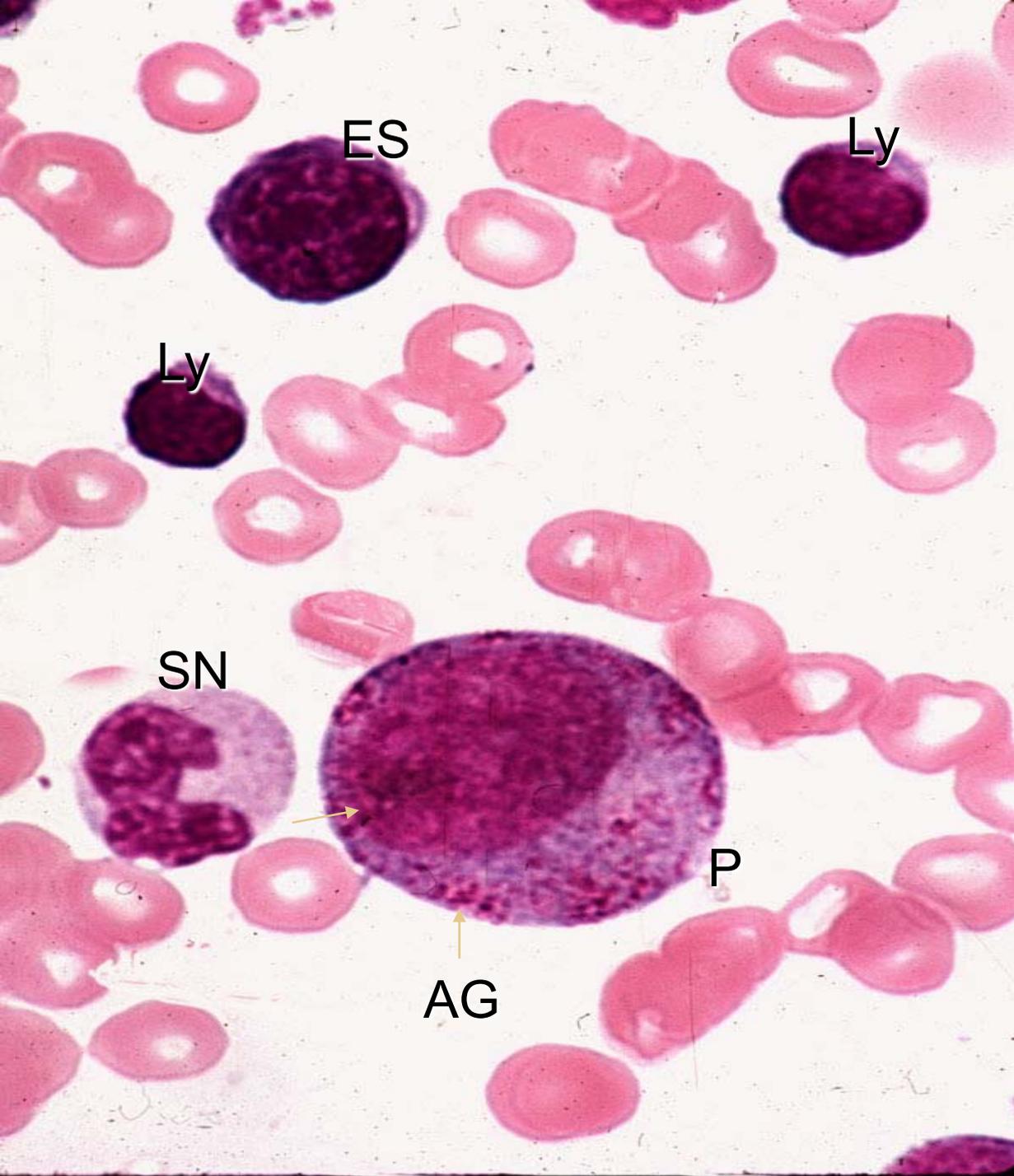
Миелобласты предшественники трех типов гранулоцитов, которые не могут дифференцироваться друг в друга. Неизвестно, существует единственный миелобласт, который является предшественником всех трех типов гранулоцитов, или существуют три предшественника миелобластов для каждого типа гранулоцитов. Митотически делясь, миелобласты дифференцируются в промиелоциты, которые в свою очередь дифференцируются в миелоциты. На стадии миелоцита появляются специфические гранулы и возможна идентификация каждого вида гранулоцитов.





Мазок красного костного мозга. x 1325.

Первые две стадии дифференцировки гранулоцитов: миелобласт и нейтрофильный миелоцит. Ядро миелобласта крупное, красновато-голубое, с нежной хроматиновой сетью и ядрышками. Специфические гранулы не обнаруживаются на стадиях миелобласта и промиелоцита. И только на стадии миелоцита появляются вторичные гранулы, позволяющие различить три типа гранулоцитов.



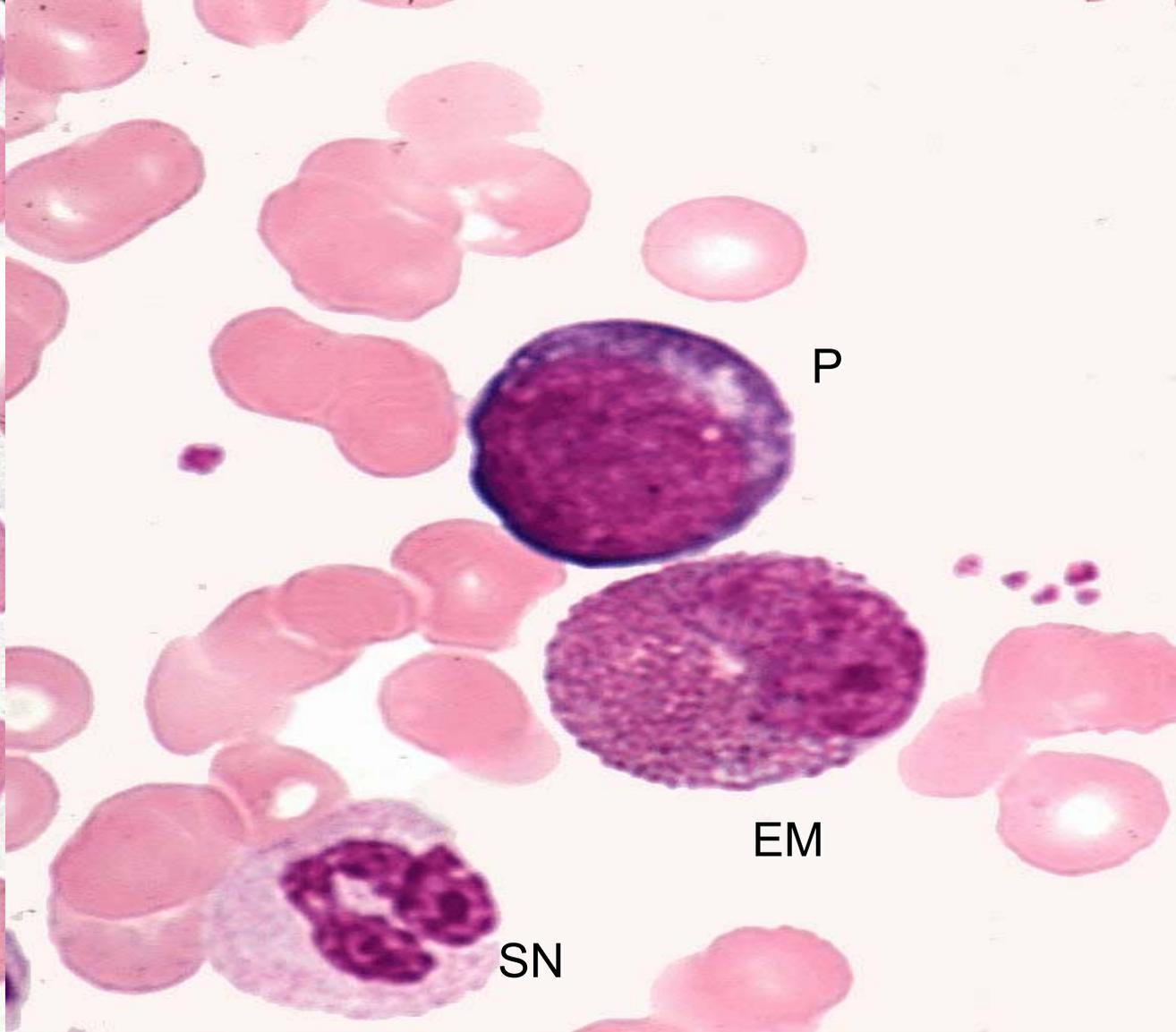
Промиелоцит.

Мазок красного костного мозга. x 1325.

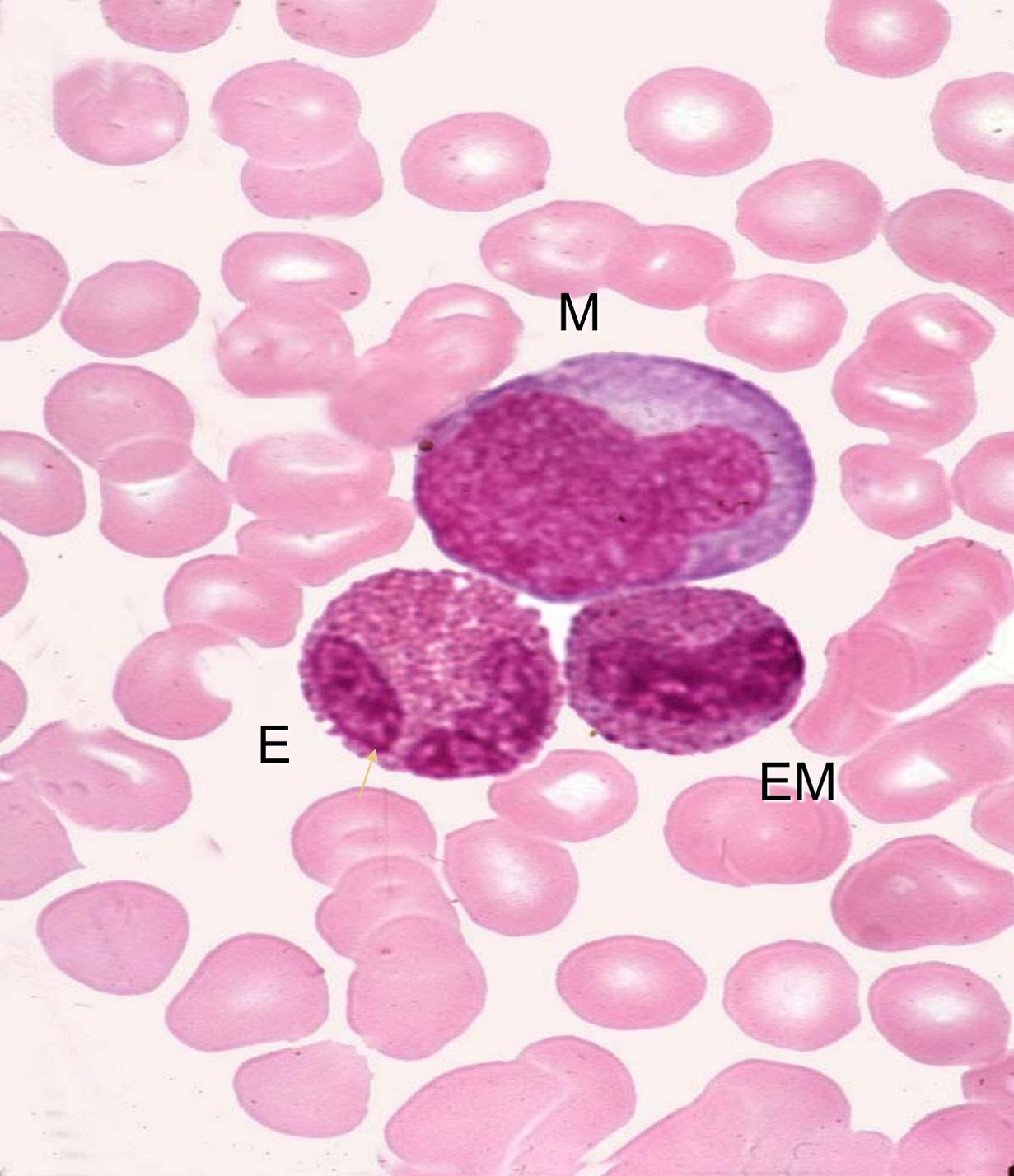
Цитоплазма промиелоцита (P) голубоватая и в ней мелкие темные азурофильные гранулы (AG). Ядро круглое, крупное, ядрышки обычно определяются.

Лимфоцит (Ly), палочкоядерный нейтрофил (SN), эритробласт (ES) в стадии между базофильным и полихроматофильным эритробластом.

Мазок красного костного мозга. x 1325.
Эозинофильный миелоцит (EM) имеет бледно-голубую цитоплазму, содержащую темные азурофильные (неспецифические) и, больше по размеру, вторичные (специфические) гранулы. Ядро красновато-розовой окраски с грубым рисунком хроматиновой сети, ядрышки не определяются.



Мазок красного костного мозга. x 1325.
Метамиелоцит (EM) похож на миелоцит, но в отличие от миелоцита имеет бобовидное ядро. Прозеритробласт (P), палочкоядерный нейтрофил (SN).



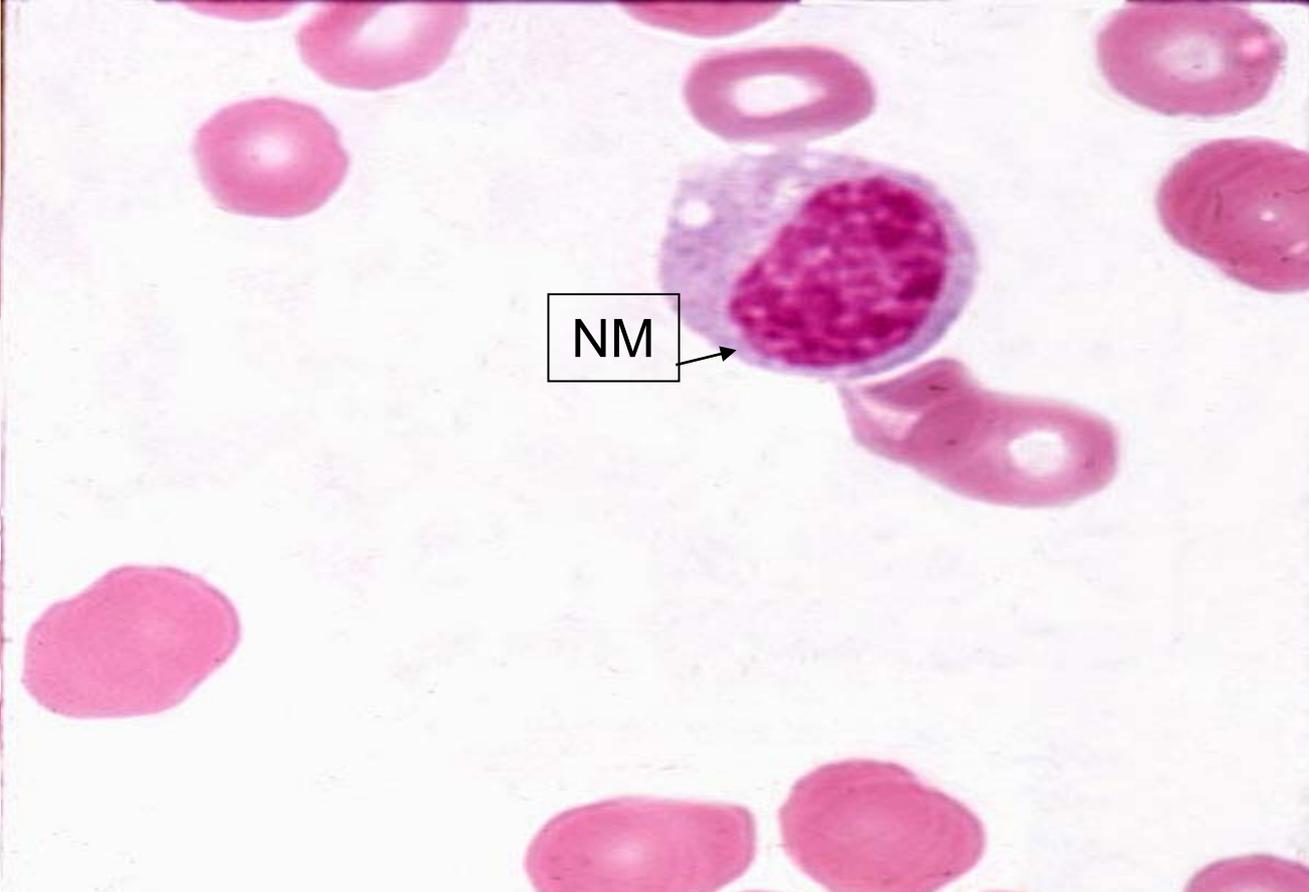
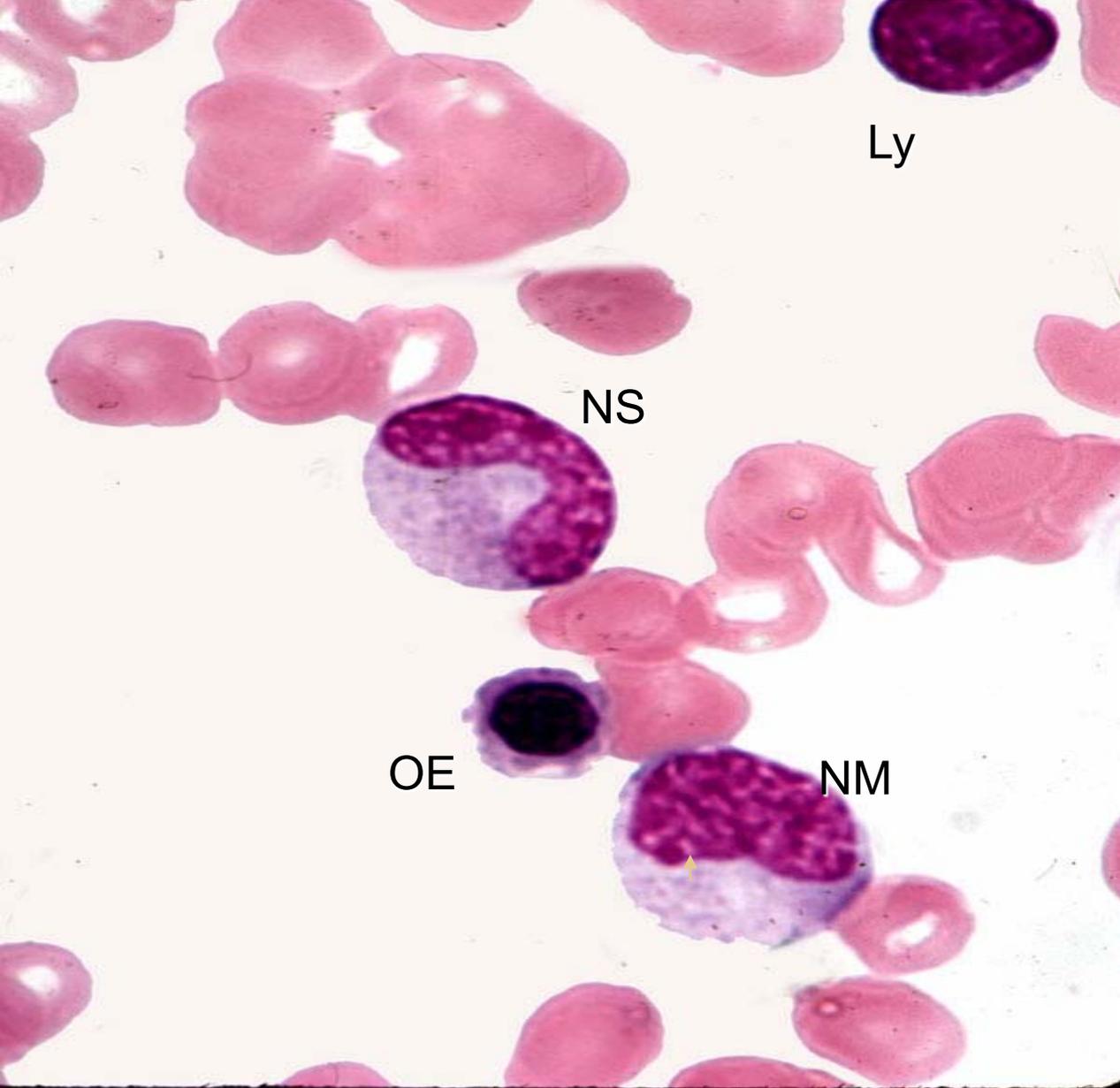
Эозинофил.

Мазок красного костного мозга. x 1325.

Эозинофил (Е) имеет в цитоплазме большие красновато-оранжевые вторичные (специфические) гранулы. Азурофильные гранулы также присутствуют. Ядро коричневатого цвета, напоминающее две сосиски, связанные между собой тонкой перетяжкой.

Моноцит (М), эозинофильный метамиелоцит (ЕМ).

Нейтрофильный метамиелоцит (NM)
и палочкоядерный нейтрофил (NS).
Human bone marrow smear. x 1325.



Мазок красного костного мозга человека. x 1325.
Нейтрофильный миелоцит (NM). Цитоплазма
окрашена в бледно-голубой цвет, содержит
темные азурофильные и специфические
нейтрофильные гранулы Ядро круглое, немного
сплющенное, видна хроматиновая сеть, ядрышки
не определяются.

Тромбоцитопоз

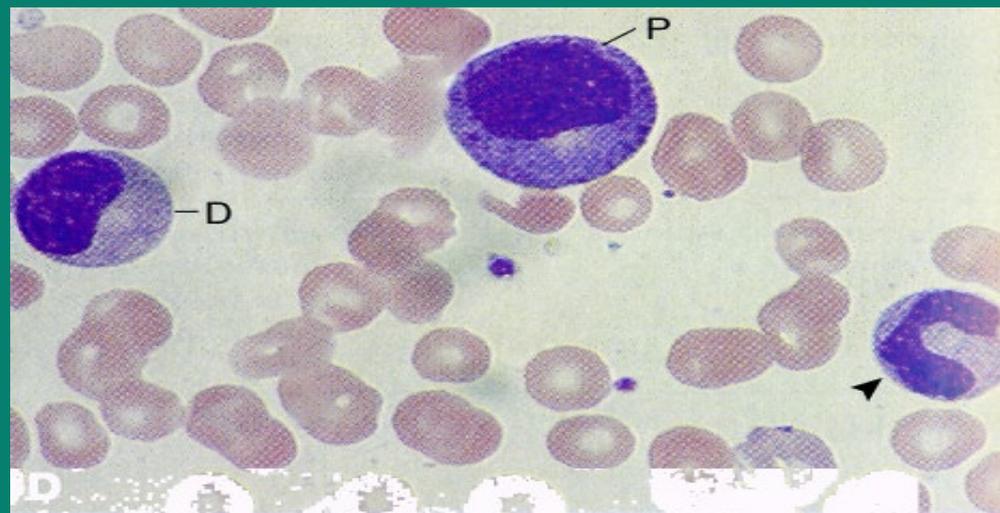
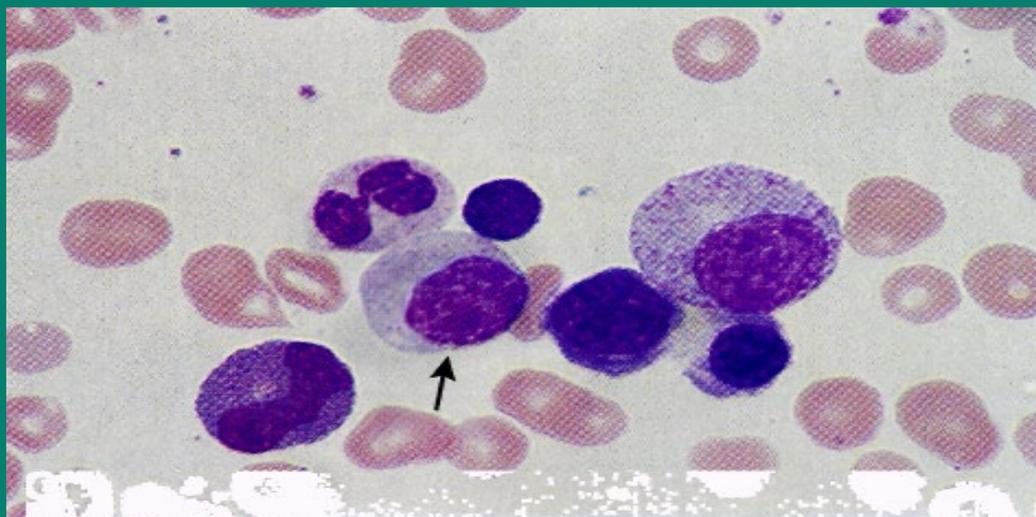
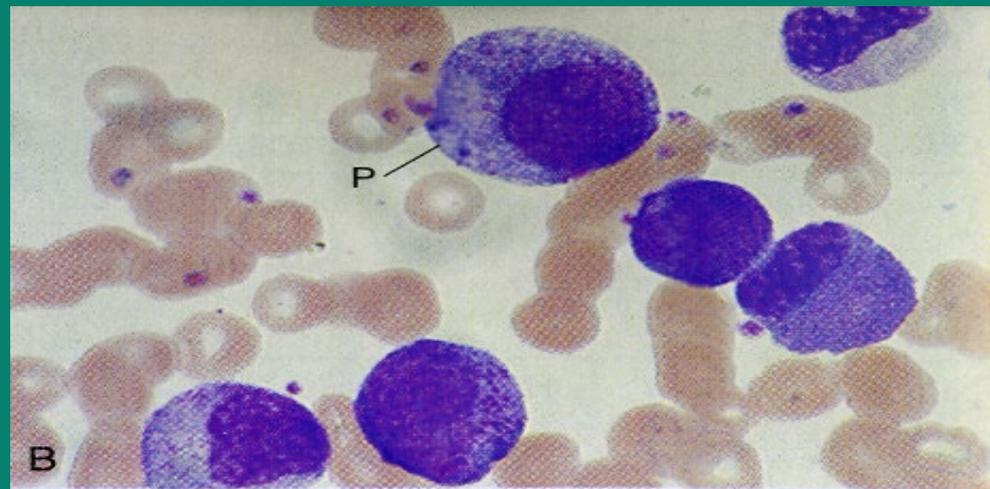
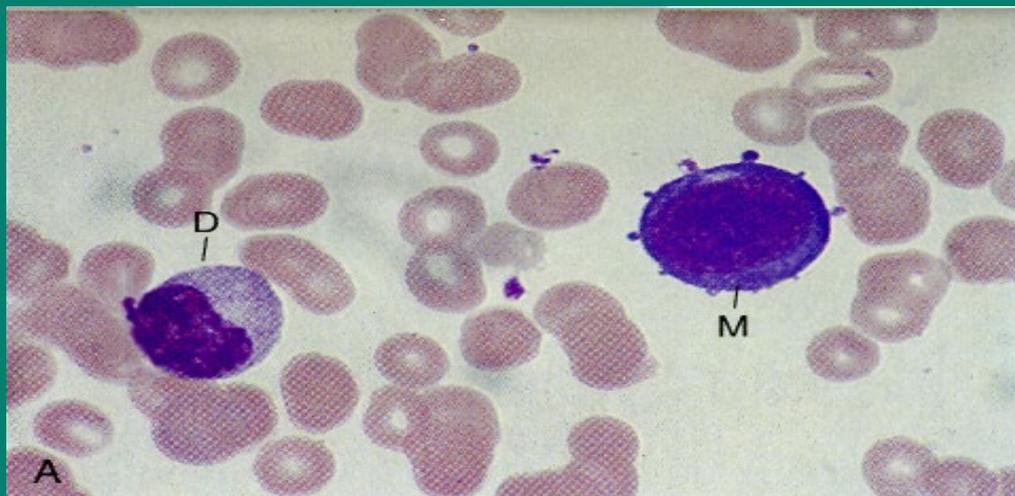
- Образование тромбоцитов (кровяных пластинок) контролируется тромбопоэтином, который индуцирует развитие и пролиферацию гигантских клеток – мегакариобластов.
- Унипотентный предшественник мегакариоцитов (CFU-Meg) дифференцируется в огромные клетки – мегакариобласты. В результате эндомитоза ядро полиплоидно (64 N). В цитоплазме находятся азурофильные гранулы.
- Мегакариобласты дифференцируются в мегакариоциты – огромные клетки величиной 40-100 мкм в диаметре. Ядро одно и разделено на доли. Мегакариоциты располагаются близко к эндотелиальным клеткам синусоидов, между которыми проникают выросты (филоподии) цитоплазмы. Демаркационные каналы (инвагинации плазмолеммы) делят выросты цитоплазмы на протромбоциты - пластинки, которые «отламываются» и сразу попадают в просвет синусов. Каждый мегакариоцит образует несколько тысяч тромбоцитов. Остатки его цитоплазмы и ядро разрушаются и фагоцитируются макрофагами.

Лимфопоэз

Мультипотентная колониобразующая единица лимфопоэза митотически делится на унипотентные родоначальные клетки: про-В-лимфоцит и протимоцит. Все три вида унипотентных предшественников не являются иммунокомпетентными.

- **CFU-LyT** клетки митотически делится на иммунонекомпетентные клетки, которые мигрируют в корковое вещество тимуса, где пролиферируют, созревают и начинают экспрессировать поверхностные маркеры, становясь иммунокомпетентными. Большинство из этих клеток в тимусе разрушается и фагоцитируется местными макрофагами. Оба вида лимфоцитов (Т и В лимфоциты) мигрируют в периферические лимфоидные органы (селезенка и лимфатические узлы) , где образуют клоны в соответствующих зонах этих органов.

Микрофотография гранулоцитопоза А: миелобласт (М), нейтрофильный метамиелоцит (D). В, Промиелоцит (P). С, Нейтрофильный миелоцит (стрелка). D, Нейтрофильный метамиелоцит (D); палочкоядерный нейтрофил (головка стрелки); P, промиелоцит (увеличение x 1234).



Стволовые клетки

- **Высокий пролиферативный потенциал** (*по-видимому, превышающий продолжительность жизни*)
- **Способность к самоподдержанию**
- **Плюрипотентность**
(*способность к дифференцировке в зрелые специализированные клетки разных тканей*)

Типы стволовых клеток

- **Эмбриональные**
- **Соматические**
(стволовые клетки взрослого человека)

Стволовые клетки костного мозга

↓

Стволовые кроветворные
клетки

↓

Мультипотентные
мезенхимальные стромальные
клетки

отличаются по:

1. способности к рециркуляции
2. радиочувствительности
3. поверхностным маркерам
4. темпу пролиферации
5. секреции элементов внеклеточного матрикса
6. секреции цитокинов и ростовых факторов
7. доступным дифференцировкам

ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

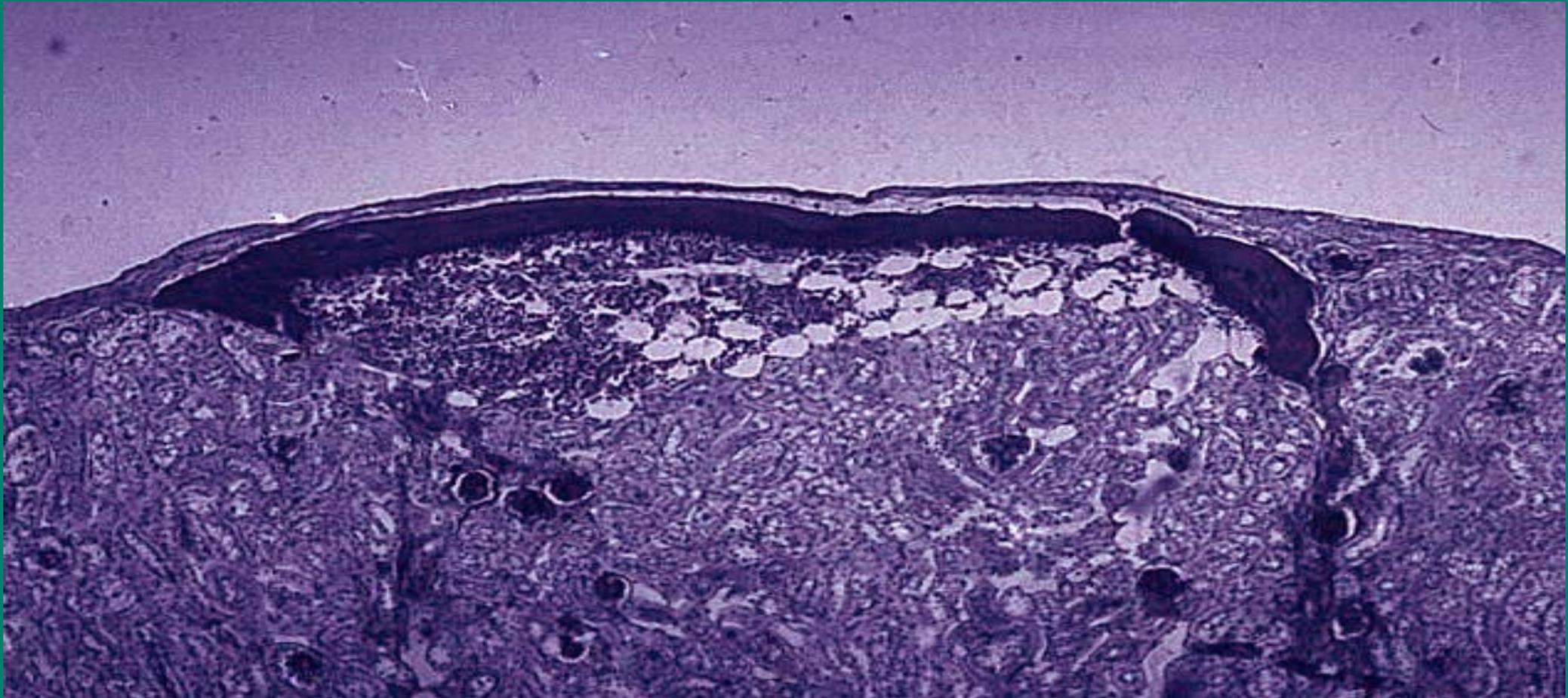
СТВОЛОВЫЕ КРОВЕТВОРНЫЕ КЛЕТКИ (СКК)

- ЭРИТРОЦИТЫ
- ГРАНУЛОЦИТЫ -
- НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ -
- ЭОЗИНОФИЛЬНЫЕ -
- БАЗОФИЛЬНЫЕ
- Т и В - ЛИМФОЦИТЫ
- ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ

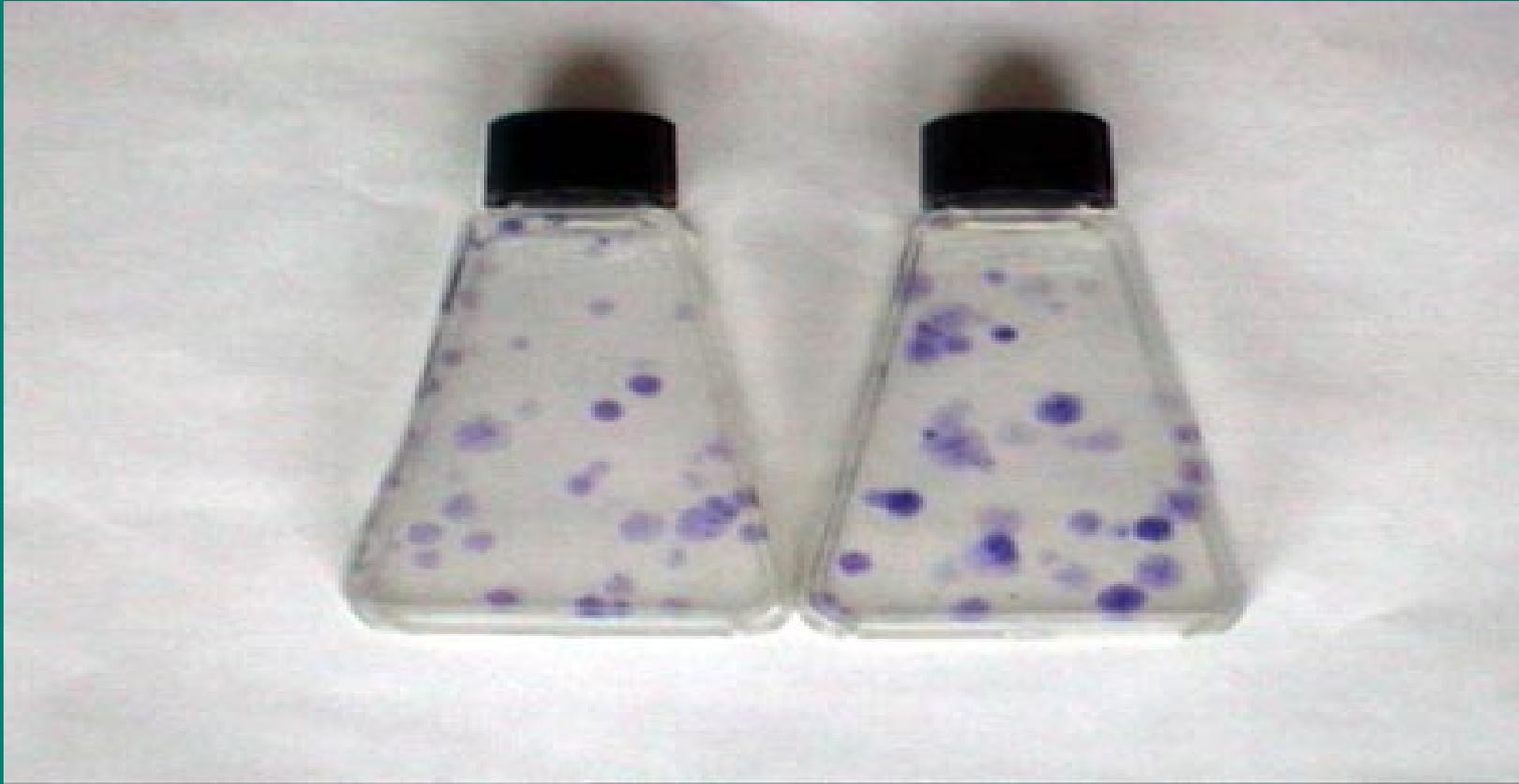
МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ (ММСК)

- ФИБРОБЛАСТЫ -
- ОСТЕОБЛАСТЫ -
- ХОНДРОБЛАСТЫ -
- ТЕНОЦИТЫ -
- ГЛАДКОМЫШЕЧНЫЕ
КЛЕТКИ -
- ЖИРОВЫЕ КЛЕТКИ -
- КЛЕТКИ ЭНДОТЕЛИЯ

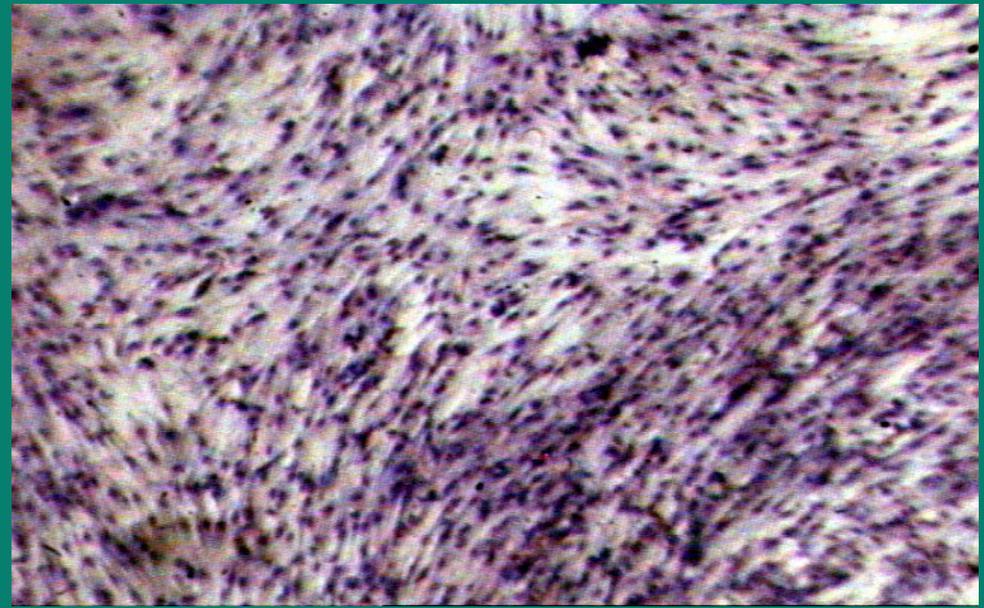
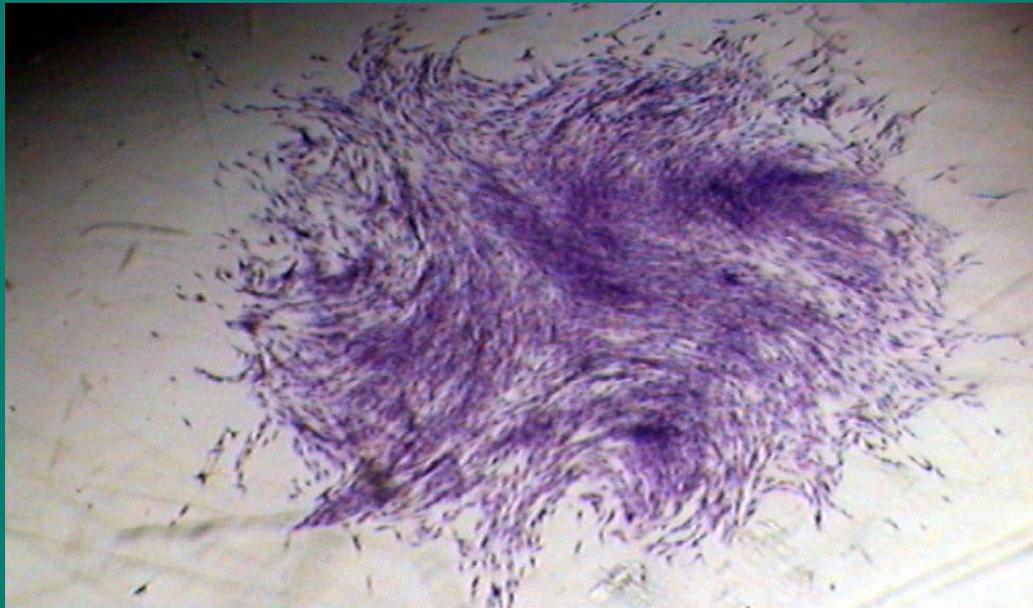
Гетеротопный костномозговой орган



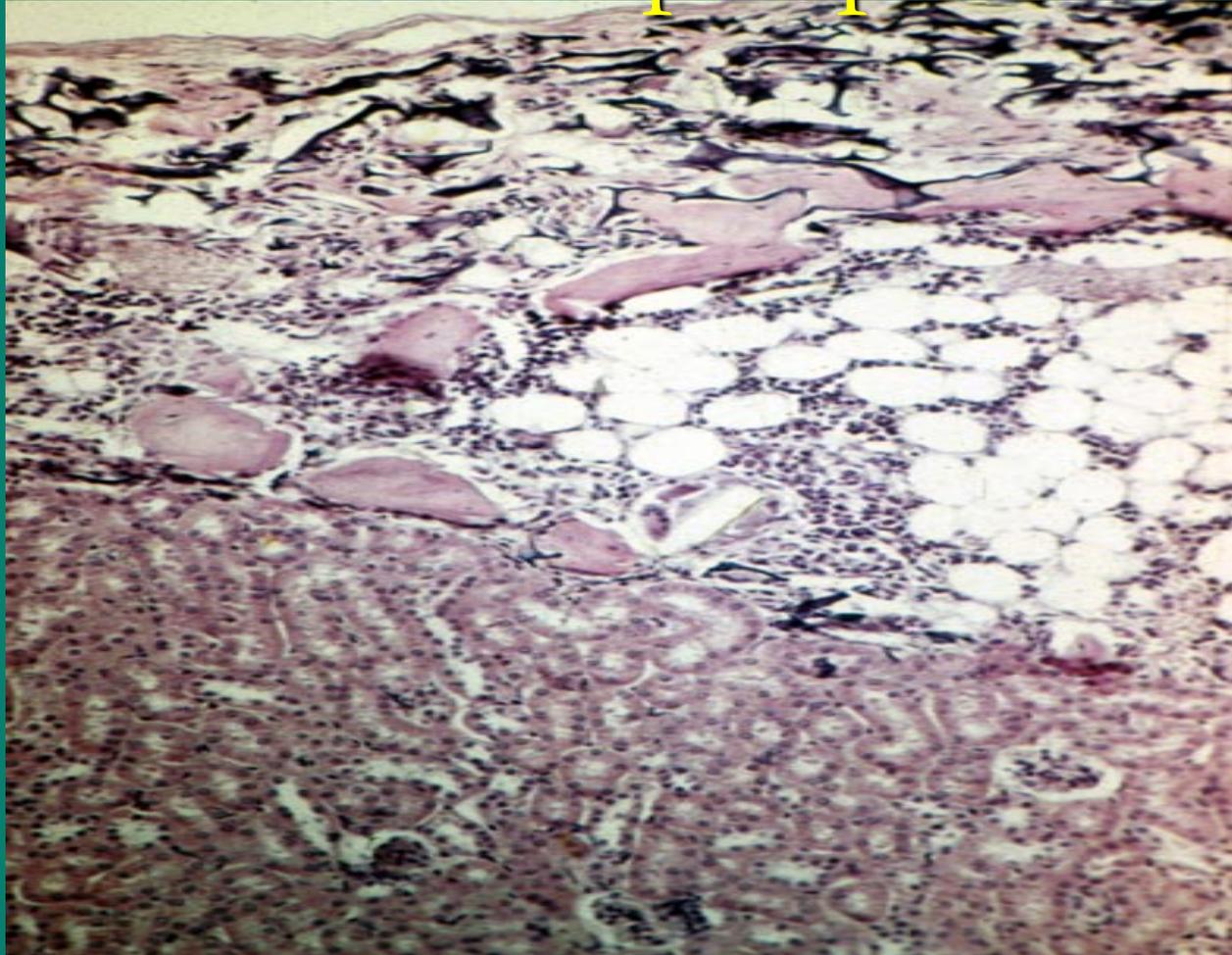
Монослойные культуры костного мозга человека / 12-ый день



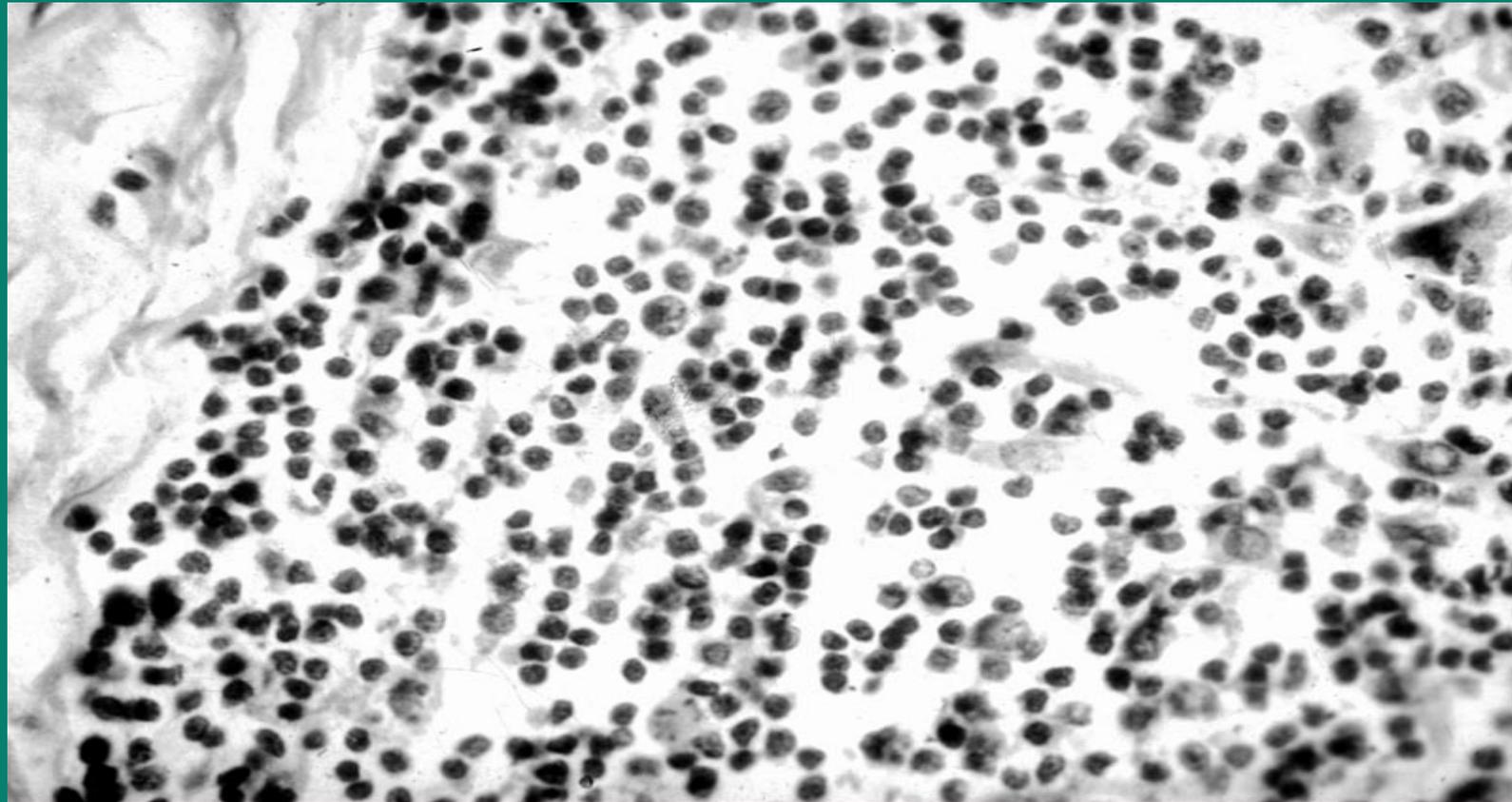
Колонии стромальных фибробластов в культурах костного мозга человека



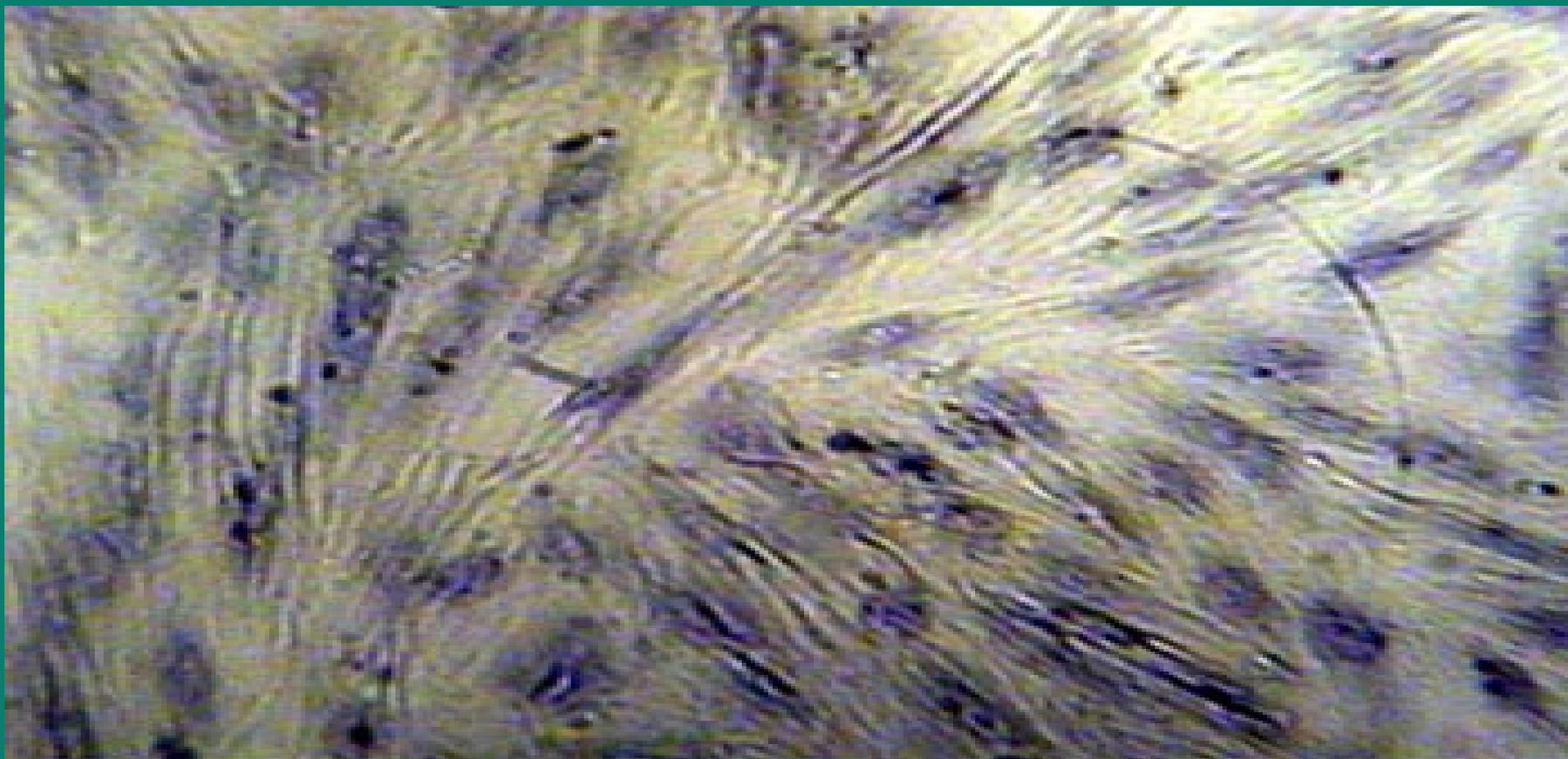
Кроветворный орган,
сформированный костномозговыми
стромальными фибробластами



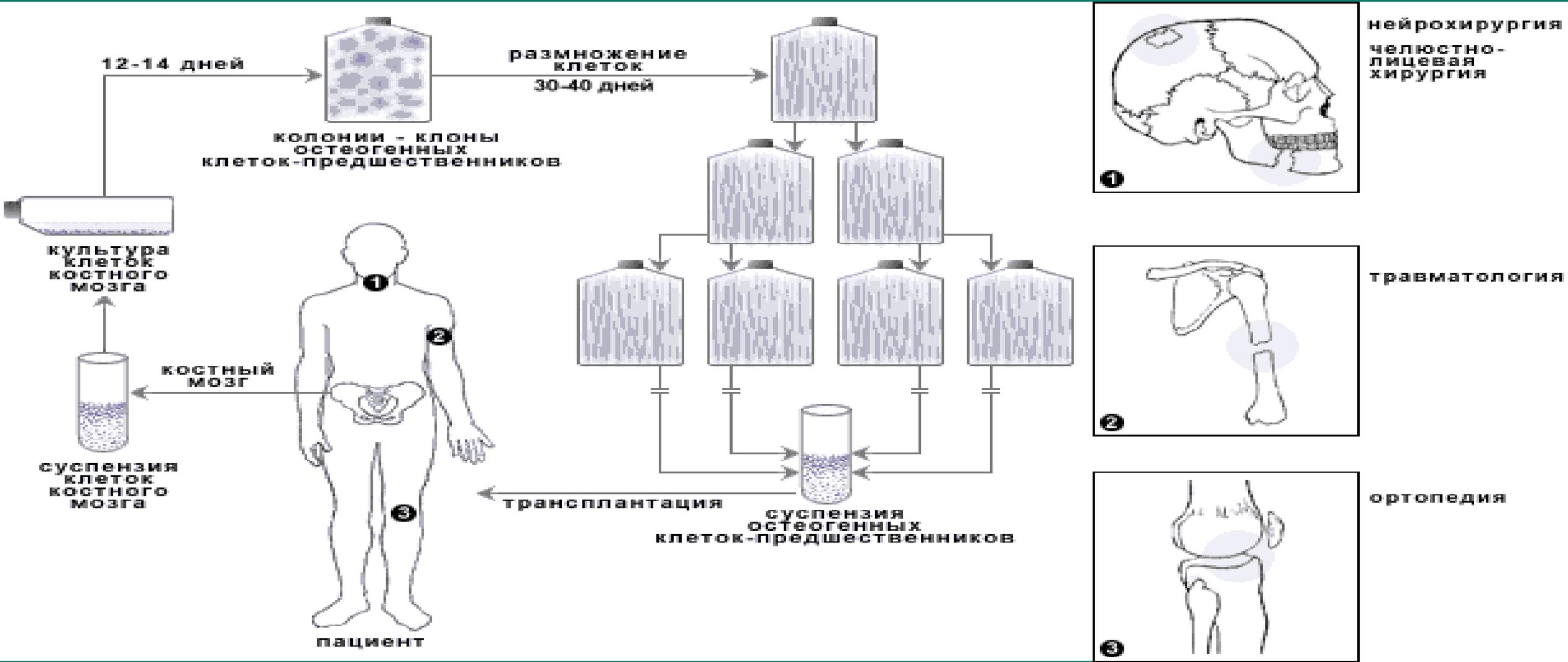
Лимфоидный орган,
сформированный стромальными
фибробластами селезенки



Штамм стромальных фибробластов КОСТНОГО МОЗГА



Биотехнологический метод культивирования стволовых клеток



Ложный сустав плечевой кости

Полное сращение отломков через 1 год



Пролиферация клеток и апоптоз

- Количество клеток в ткани регулируется двумя процессами — пролиферацией клеток и *"программированной, или физиологической, гибелью клеток"* (апоптозом).
- Оба процесса в организме находятся под контролем стимулирующих или ингибирующих факторов, которые присутствуют в растворимой форме или экспрессируются на поверхности соседних клеток.

АПОПТОЗ

- Апоптоз — генетически запрограммированная гибель клеток, которая приводит к "аккуратной" разборке и удалению клеток.
- Морфологическими признаками этого активного процесса являются изменения клеточной мембраны ("отшнуровывание" пузырьков, так называемых апоптотических телец), распад клеточного ядра, уплотнение хроматина и фрагментация ДНК.
- Клетки, подвергшиеся апоптозу, распознаются макрофагами и другими фагоцитирующими клетками и быстро элиминируются
- Очень важно то, что при апоптозе не развивается воспалительный процесс.

АПОПТОЗ

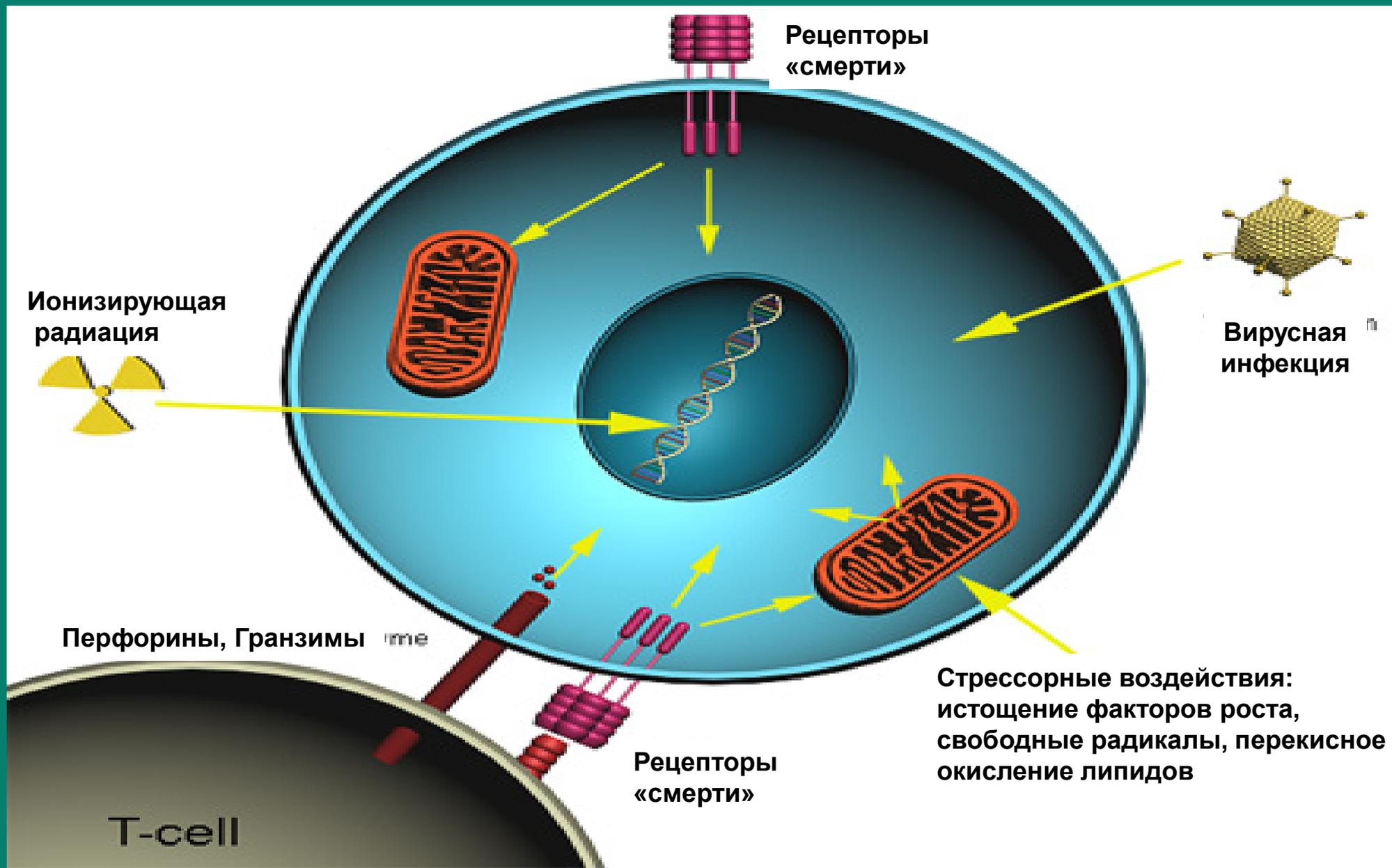
АПОПТОЗ – это процесс самоуничтожения клеток, от которых организм хочет по разным причинам избавиться.

Механизмы апоптоза включаются и работают под контролем системы клеточного цикла (CDC - cell division cycle), в которую входит более 100 генов, регулирующих клеточный цикл.

Значение апоптоза – не допустить репродукцию нежелательных клеток и удалить их из организма.

Путем апоптоза удаляются клетки, утратившие свое значение в эмбриогенезе, клетки органов, подвергающихся инволюции в онтогенезе, мутировавшие клетки, злокачественно трансформированные клетки и др.

Факторы индукции апоптоза

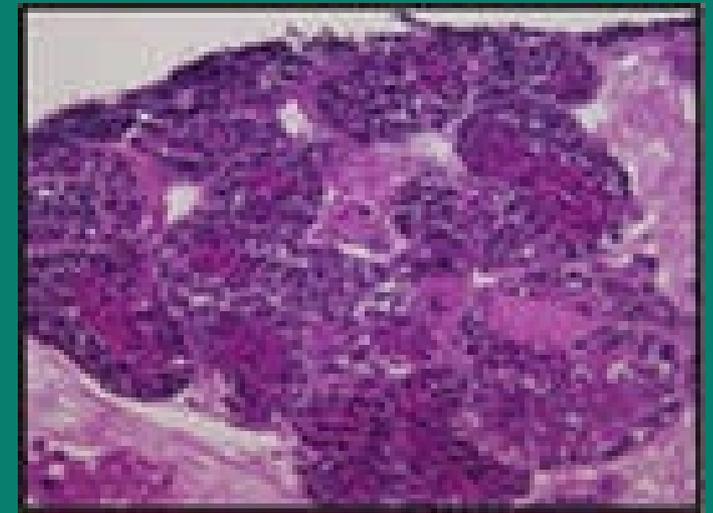
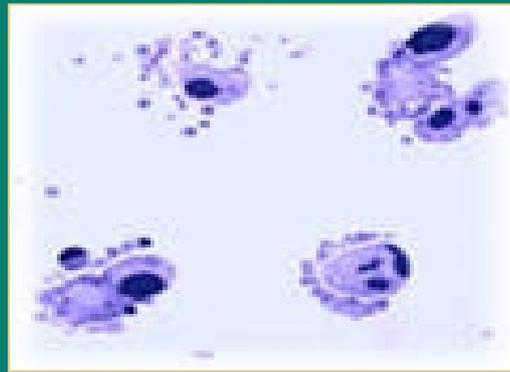
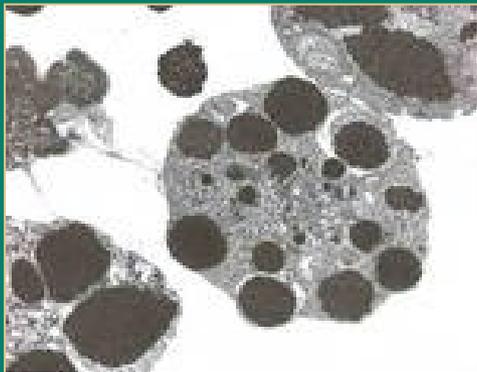


Цитоморфология апоптоза

При апоптозе происходят характерные изменения:

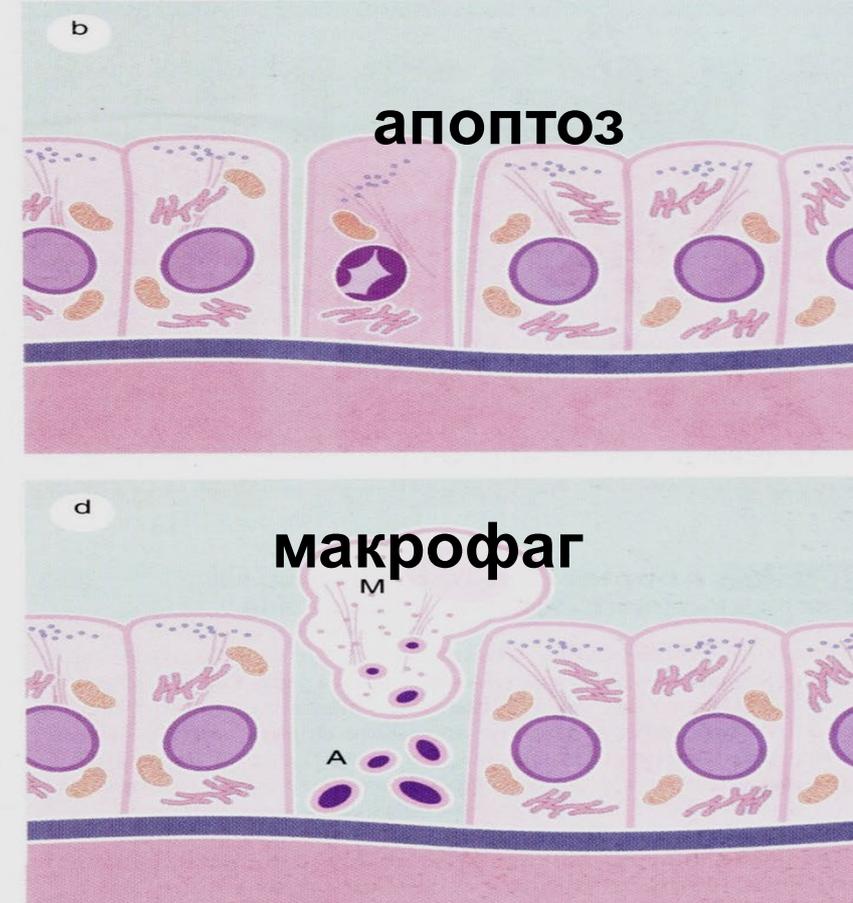
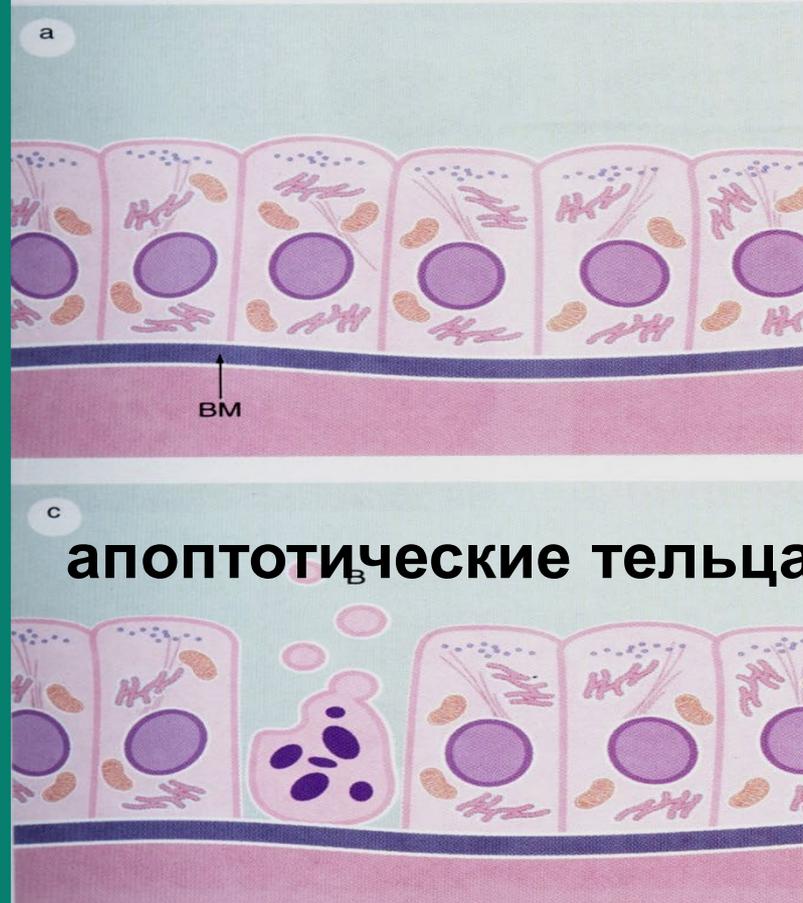
- уплотнение гиалоплазмы;
- конденсация и деградация хроматина;
- кариопикноз и кариорексис;
- фрагментация клетки с образованием апоптозных телец,
(окруженных мембраной клеточных структур).

Апоптозные тельца - маркеры апоптоза.



АПОПТОЗ

Клетка уменьшается в размерах; цитоплазма уплотняется; органеллы, которые выглядят относительно нормальными, располагаются более компактно.



Предполагается, что нарушение формы и объема клетки происходит в результате активации в апоптотических клетках транскляминазы. Этот фермент вызывает прогрессивное образование перекрестных связей в цитоплазматических белках, что приводит к формированию своеобразной оболочки под клеточной мембраной, подобно ороговевающим клеткам эпителия («сморщивание клетки»).

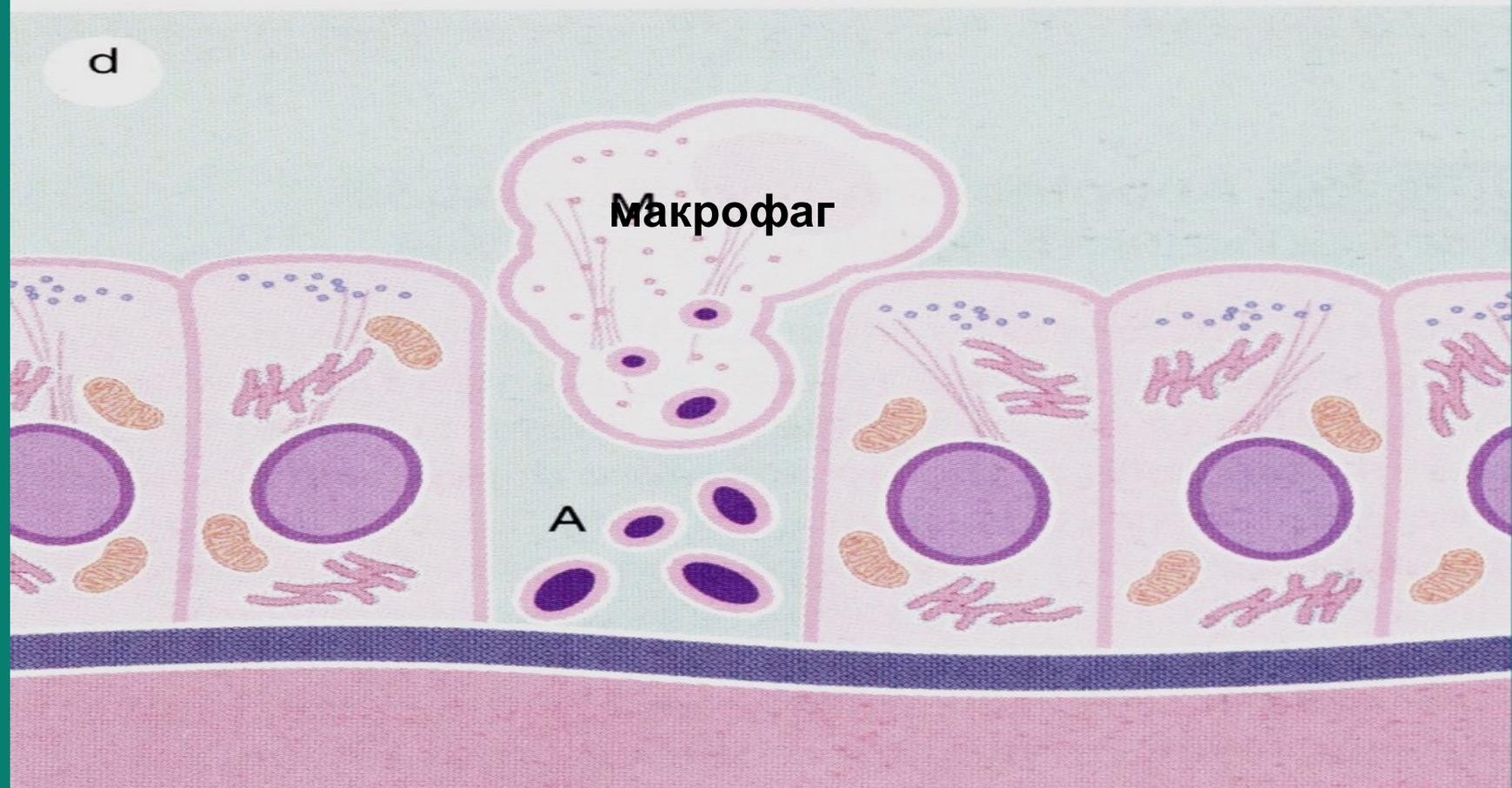
АПОПТОЗ



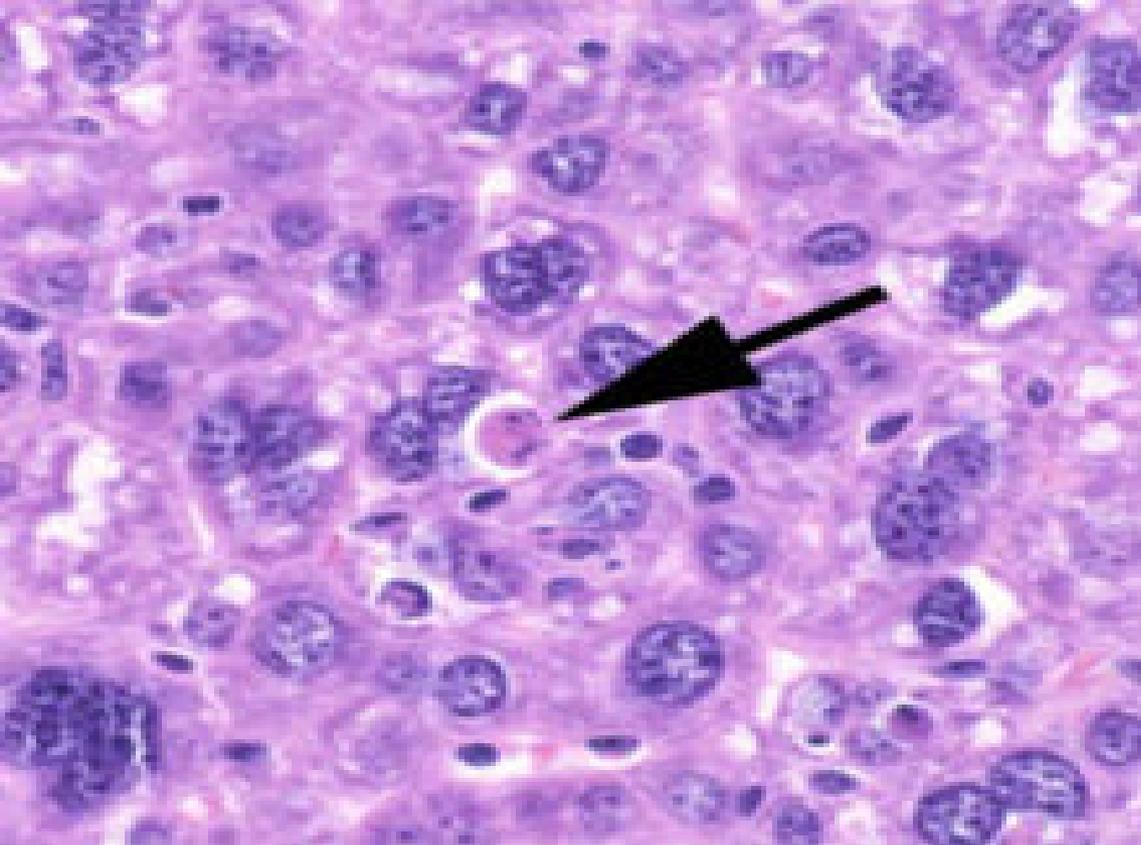
Формирование в цитоплазме полостей и апоптотических телец. В апоптотической клетке первоначально формируются глубокие впячивания поверхности с образованием полостей, что приводит к фрагментации клетки и формированию окруженных мембраной апоптотических телец, состоящих из цитоплазмы и плотно расположенных органелл, с или без фрагментов ядра.

АПОПТОЗ

Фагоцитоз апоптотических клеток или телец осуществляется окружающими здоровыми клетками, или паренхиматозными, или макрофагами.

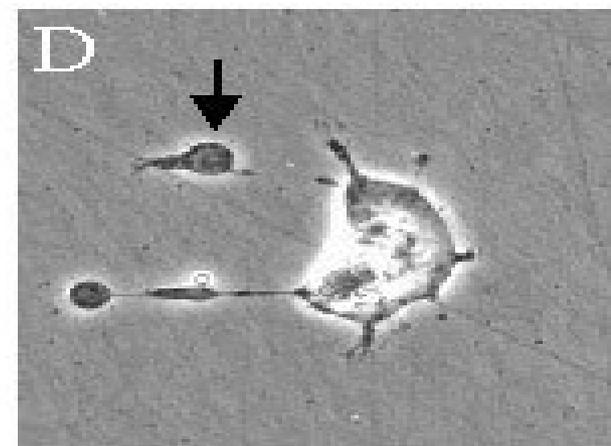
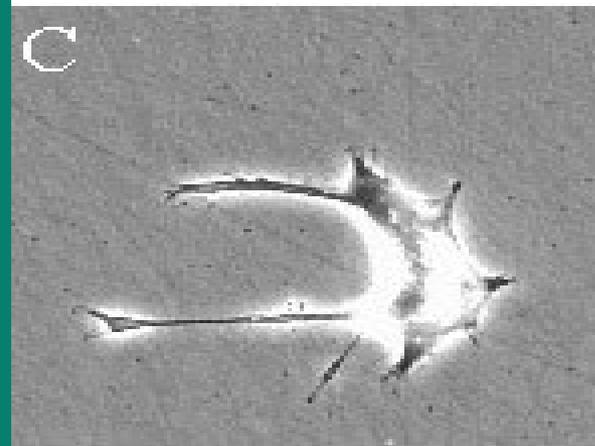
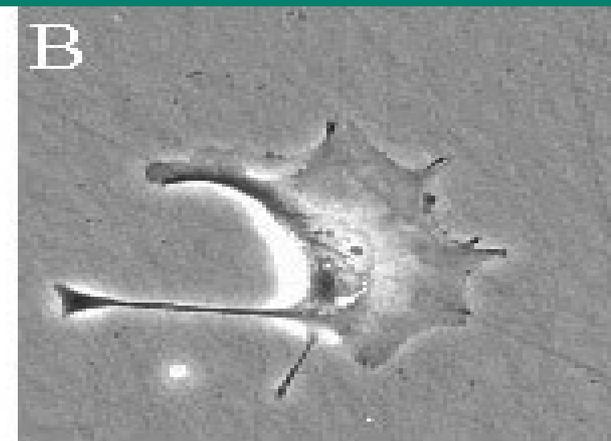
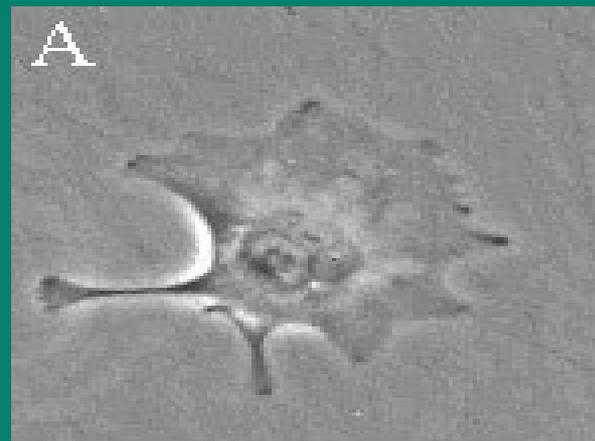


Апоптотические тельца быстро разрушаются в лизосомах, а окружающие клетки либо мигрируют, либо делятся, чтобы заполнить освободившееся после гибели клетки пространство. Фагоцитоз апоптотических телец макрофагами или другими клетками активируется рецепторами на этих клетках: они захватывают и поглощают апоптотические клетки. Один из таких рецепторов на макрофагах – рецептор витронектина, который является $\beta 3$ -интегрином и активирует фагоцитоз апоптотических нейтрофилов.



На микропрепарате ткани печени
заметна конденсация хроматина
в ядре апоптотической клетки

Микрофотографии
апоптотической клетки на
разных стадиях процесса



Клинические корреляции

- С помощью апоптоза осуществляется регуляция объема или, точнее, количества клеток в той или иной ткани. В особенности это касается быстро пролиферирующих клеток, таких, как клетки кроветворной системы или гепатоциты печени.
- Посредством апоптоза организм избавляется от ненужных, или «отработавших», клеток, например во время эмбрионального развития, при формировании нервной системы и при иммунном ответе.
- Путем апоптоза элиминируются трансформированные клетки, например при канцерогенной дегенерации, вирусной инфекции или необратимом повреждении ДНК в случае облучения.
- Примером апоптоза является шелушение кожи при солнечном загаре.

Регуляция апоптоза

- Апоптоз запускается внешними сигналами, которые используют различные сигнальные пути, большинство этих путей действительно запускают апоптоз, однако некоторые пути его блокируют.
- Фактор некроза опухолей [α -ФНО (TNF α),] связывается с ФНО-рецептором первого типа и запускает апоптоз.
- Центральное место в регуляции апоптоза принадлежит цистеиновым протеиназам, родственным интерлейкин-1 β -конвертазе (ИК).
- Предполагают, что активация этих протеиназ через ФНО-рецептор происходит как многоступенчатый процесс белок-белкового взаимодействия.
- ИК-подобные протеиназы специфическим образом расщепляют поли-(АДФ-рибозил)-полимеразу (ПАРП), белки sn-рибонуклеопротеидного комплекса, ламин (белок ядерной мембраны) и другие белки. Эти измененные за счет протеолиза белки запускают процесс апоптоза.

Регуляция апоптоза

- Источником сигнала может быть и клеточное ядро. Так, белок p53, продукт онко-супрессорного гена, который тоже активирует цистеиновые протеиназы, может быть активирован посредством нерепарабельного разрыва ДНК (DNA).
- Утрата клеткой белка p53 ведет к повышенной скорости роста опухоли.
- Сигналам, которые активируют апоптоз, противостоят другие сигналы, блокирующие апоптоз.
- Таким сигналом может быть белок bcl-2 или родственные белки.
- Ген этого белка присутствует в геноме некоторых вирусов. С помощью продукта этого гена вирусы препятствуют преждевременной гибели клетки-хозяина посредством апоптоза.

Некроз

- Некроз - развивается в результате повреждения клеточной мембраны химическими агентами или физическими факторами.
- При некрозе поврежденные клетки набухают, а затем лизируются; при этом часто развивается воспалительный процесс.

Сравнительная характеристика апоптоза и некроза

Признак	Апоптоз	Некроз
Индукция	Активируется физиологическими или патологическими стимулами	Различная в зависимости от повреждающего фактора
Распространенность	Одиночная клетка	Группа клеток
Биохимические изменения	Энергозависимая фрагментация ДНК эндогенными эндонуклеазами. Лизосомы интактные.	Нарушение или прекращение ионного обмена. Из лизосом высвобождаются ферменты.
Распад ДНК	Внутриядерная конденсация с расщеплением на фрагменты	Диффузная локализация в некротизированной клетке
Целостность клеточной мембраны	Сохранена	Нарушена
Морфология	Сморщивание клеток и фрагментация с формированием апоптотических телец с уплотненным хроматином	Набухание и лизис клеток
Воспалительный ответ	Нет	Обычно есть
Удаление погибших клеток	Поглощение (фагоцитоз) соседними клетками	Поглощение (фагоцитоз) нейтрофилами и макрофагами