

мального микроокружения достаточно полно охарактеризованы только для гемопоэтических, нервных и эпителиальных, но не для мезенхимальных стволовых клеток. Гипотетически предполагается, что они могут существовать в пограничной периостальной зоне (Чертков, Гуревич, 1984; Lansdorp, 1995; Watt, Hogan, 2000). Однако до настоящего времени данные образования найдены не были. Кроме того, следует учитывать, что количество самих МСК в костном мозге чрезвычайно мало и, по-видимому, уменьшается в течение жизни (Maskay et al., 1999; Pittenger et al., 1999), что значительно усложняет решение поставленной задачи на уровне целостного организма. На первом этапе, чтобы проверить эту гипотезу, нами была выбрана система *in vitro*, позволяющая создать высокую концентрацию мезенхимальных стволовых клеток.

Опыты были проведены на 110 мышах обоего пола линии СВА, С57Bl/6, Balb/c или гибридах F₁ (СВАхС57Bl/6) массой 18–21 г. Животных забивали методом смещения шейных позвонков. После чего в стерильных условиях извлекали бедренную кость. Костный мозг вымывали с помощью шприца во флаконы. После получения гомогенной взвеси подсчитывали клеточность и жизнеспособность с помощью трипанового синего. Концентрацию клеток доводили до $(3-5) \times 10^6$ /мл полной среды и разливали по 20 мл в 50-мл пластиковые флаконы фирмы Falcon. В качестве полной среды использовали: 75% среды DI-MEM, 12,5% эмбриональной телячьей сыворотки, 12,5% лошадиной сыворотки, 1 мкг/мл инсулина, 5,5 мкг/мл трансферрина, 5 нг/мл натрия селенита, 120 мкг пирувата, 10^{-7} М дексаметазона, 250 мг/л L-глутамина, 100 ЕД/мл пенициллина, 40 мМ хепес-буфера, 100 мг/мл стрептомицина (все реактивы были получены от фирмы "Sigma"). Клетки культивировали при 37 °С. Через 3 суток надосадочную жидкость удаляли и замещали свежей порцией полной среды. Культивирование продолжали в течение 24 суток с заменой среды через каждые 3–6 суток. Периодически проводили забор материала с проведением фазово-контрастной микроскопии, прижизненной окраской нейтральным красным, окраской фиксированных препаратов по Романовскому-Гимзе или проведением цитохимических реакций на щелочную фосфатазу, альфа-нафтилацетатэстеразу, или проводили сканирующую электронную микроскопию.

В процессе культивирования было установлено, что к 6–10-м суткам преобладающими элементами были так называемые "округлые" клетки, имеющие относительно небольшое ядро и раз-

витую цитоплазму (рис. 2.23), которые к 12–14-му дню трансформировались в различные клеточные линии.

Доминирующей популяцией были фибробластоподобные элементы ($28,3 \pm 3,4\%$), затем шли так называемые "округлые" клетки ($21,2 \pm 2,2$), хондроцитоподобные ($18,9 \pm 3,7$), миоцитоподобные элементы ($14,0 \pm 2,9$), нейральные ($9,7 \pm 3,1$), эпителиоподобные ($4,1 \pm 1,2$) и недифференцированные клетки ($2,8 \pm 0,4$).

Колонии в культуре обнаруживаются, начиная с 6-х суток – ($4,3 \pm 3,3$) $\times 10^6$, достигая максимума к 12–14-му дню – ($20,1 \pm 7,3$) $\times 10^6$, после чего сливаются и формируют монослой (рис. 3.24). Во многом аналогичные данные получены и другими авторами (Шумаков и др., 2003; Minguell et al., 2001; Dennis et al., 2002).

Начиная с 7–8-х суток, в культуре определяются своеобразные образования, которые состоят из крупной эпителиоподобной центральной клетки, окруженной короной округлых клеток (рис. 2.25–2.27). Их количество возрастает, достигая максимума к 14-м суткам, после чего наблюдаются изменение формы, потери клеток в короне и исчезновение большей, но не всей части МО к 24-му дню (табл. 2.7). Была выявлена дозовая зависимость между количеством пассируемых клеток и количеством данных образований, что свидетельствует об их клоногенной природе (табл. 2.7).

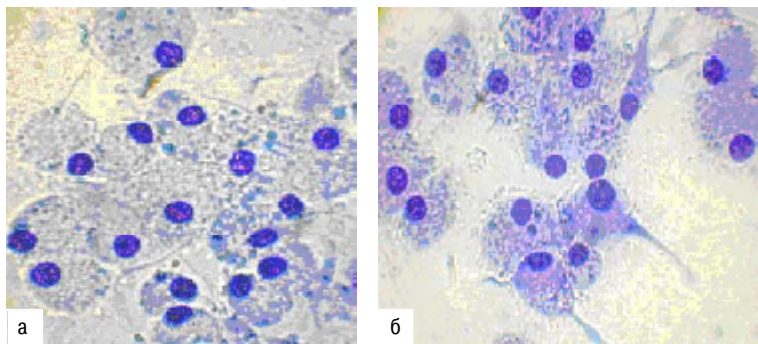


Рис. 2.23. Скопления "округлых" клеток, выращенных из костного мозга мышей линии СВА *in vitro* на 7-е (а) и 10-е (б) сутки культивирования. На 10-й день, в отличие от 7-го, клеточные элементы начинают дифференцироваться с образованием цитоплазматических отростков в виде выростов и несколько изменяются по форме. Появляются вытянутые мезенхимальные элементы. Ув. 600х, окраска азур II-эозин

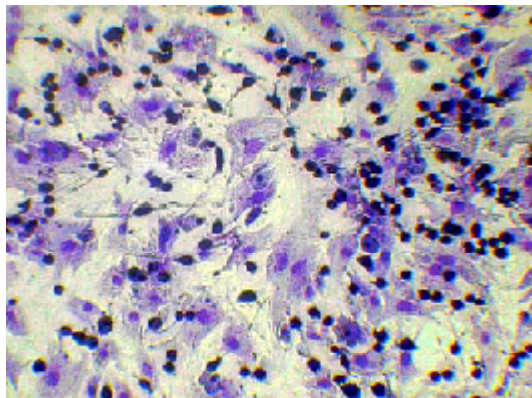


Рис. 2.24. Монослой мезенхимальных клеток, выросших из костного мозга мышей линии СВА на 28-е сутки культивирования. В ряде клеток видны картины митоза. Ув. 400х, окраска гематоксилин-эозином

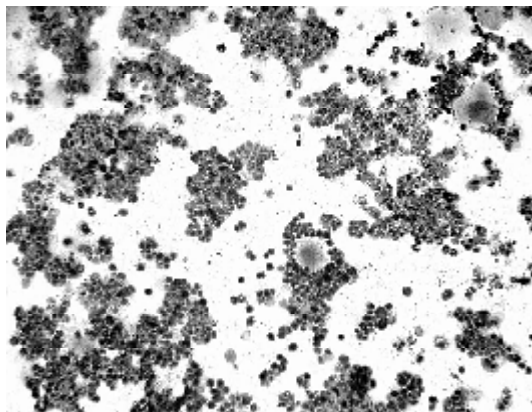


Рис. 2.25. Незрелые мезенхимальные островки 1, 2 и 3-го классов, выросшие из культуры костного мозга мышей линии Balb/c на 10-е сутки. Ув. 200х, окраска азур II-эозином

В отличие от эритроидных и гемопоэтических островков, центральная клетка не являлась макрофагом и имела эпителиоподобную структуру (рис. 2.26).

Таблица 2.7

Дозовая зависимость между количеством вводимых в культуру клеток и числом образовавшихся мезенхимальных островков (без учета их числа в колониях) на 6, 12 и 24-е сутки инкубации (X, P_и)

N/N группы	Количество вводимых клеток (10 ⁶ /мл)	Время культивирования (сут.) и число МО (на 10 ⁴ клеток в культуре)		
		6	12	24
1	1,2	0,1±0,02	17,0±0,9	0
2	3,1	0,8±0,1	39,3±2,1*	0,3±0,1
3	5,7	1,5±0,9*	46,0±1,9*	1,4±0,7*

Примечание: * – обозначены значения P_и < 0,05 по отношению к первой группе.

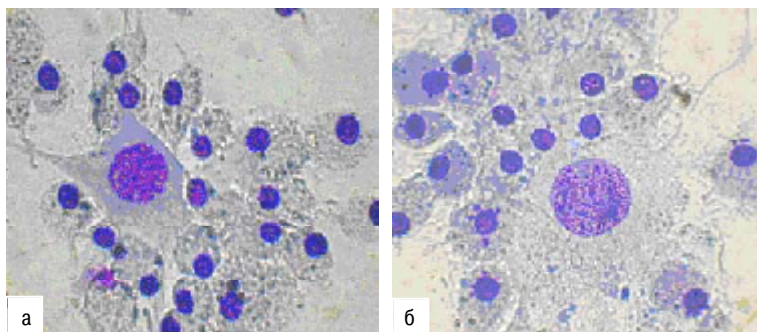


Рис. 2.26. Мезенхимальные островки, выросшие из костного мозга мышей линии СВА (а) и линии С57Вl/6 (б) на 10-е сутки культивирования. Окраска азур II-эозином, ув. 800х

Тот факт, что во время прижизненной окраски центральная клетка не фагоцитирует нейтральный красный, а также не дает положительную реакцию на кислую фосфатазу (фиксированные препараты) свидетельствует в пользу того, что она не относится к макрофагальной линии клеток.

По количеству клеток, формирующих корону, МО островки можно разделить на три класса: 1-го – от 3 до 16; 2-го (в среднем 10–25% от всей популяции МО, исключая колонии) – от 17 до 128 (60–80%) и 3-го – свыше 129 кариоцитов (5–15%) (рис. 2.25–2.27). По степени зрелости МО подразделяются на незре-

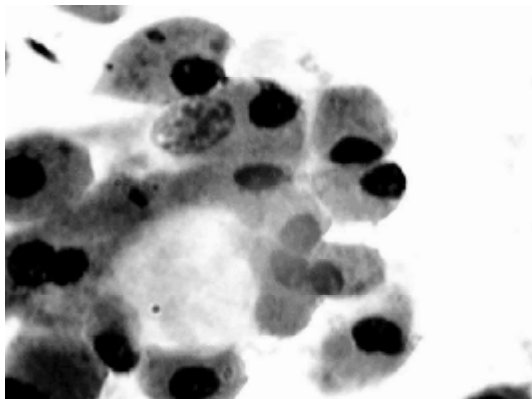


Рис. 2.27. Нативный препарат (в темном поле) мезенхимального островка, выросшего из костного мозга мышей линии СВА на 12-е сутки культивирования. Ув. 600х

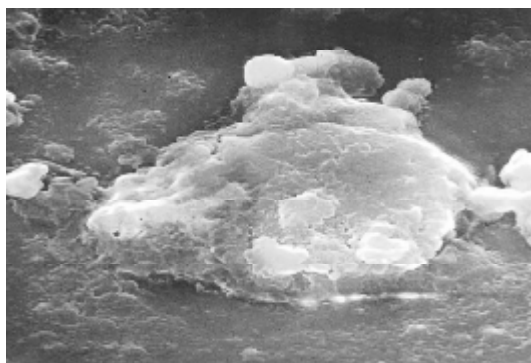


Рис. 2.28. Сканирующая электронная микроскопия мезенхимальных островков. В центре располагается гигантская клетка-нянька, тесно связанная цитоплазматическими отростками с окружающими ее МСК. Напыление серебром. Ув. 2500х

лые (состоящие из недифференцированных округлых клеток), созревающие (около 30% клеток короны представлены дифференцированными, а 70% – недифференцированными клетками) и зрелые (70% и более клеток короны составляют зрелые, а 30% и менее – незрелые клетки). Большинство МО содержат одну

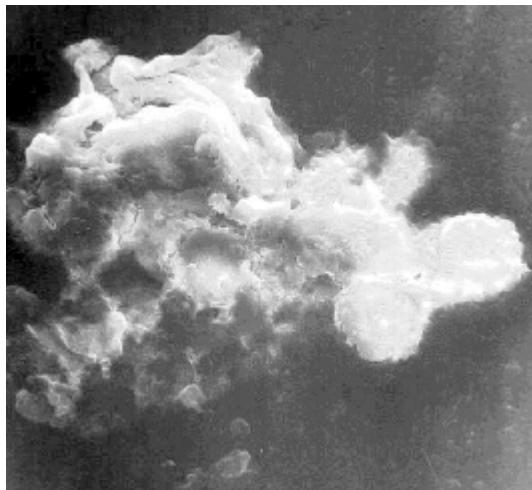


Рис. 2.29. Сканирующая электронная микроскопия мезенхимального островка, центральная клетка которого тесно связана с МСК (округлые шаровидные клетки). Напыление серебром. Ув. 2100х

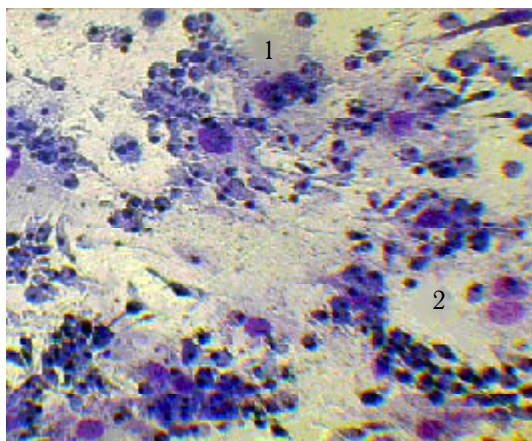


Рис. 2.30. Культура костного мозга мышей линии Balb/c на 14-е сутки инкубации. Цифрами 1 и 2 обозначены островки с двумя центральными клетками. Окраска азур II-эозином. Ув. 200х

центральную клетку (ЦК), которая тесно взаимодействует с окружающими ее МСК (рис. 2.27–2.29). Достаточно редко (менее 3%) в островках присутствуют две ЦК (рис. 2.30).

2.9. ФЕНОМЕН СЛИЯНИЯ (ПОЛИПЛОИДИИ) МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК В МО

В 2003 г. в опытах на животных был установлен факт того, что при введении гемопоэтических СК в сердечную, нервную или печеночную ткани происходит не прямая их дифференцировка в соответствующий тип клеток, а их слияние с окружающими кардиоцитами. Образующиеся гибриды несут в себе характеристики слившихся клеток. Этот феномен был обнаружен как для системы *in vitro*, так и *in vivo*, и касается преимущественно кроветворных прогениторных клеток (Alvarez-Dolado et al., 2003; Wang et al., 2003). Вопрос о том, работает ли подобный механизм в отношении мезенхимальных СК, остается открытым.

Эти исследования еще раз подтверждают, что гемопоэтические СК костного мозга не способны дифференцироваться в КМЦ, клетки печени, нервной ткани, а образуются гибриды с соответствующими фенотипическими маркерами сердечной или иной ткани. Тем не менее, в эксперименте и практике при введении моноклеаров костного мозга, содержащих ГСК, часто наблюдается очевидный клинический эффект. Так что вопрос о том, хорошо ли слияние клеток для организма или плохо, пока не имеет ответа.

Очевидно, гигантские клетки формируются в результате полиплоидии МСК, т.к. количество хромосом в ядре было гаплоидным – 2n (рис. 2.31). Ряд авторов считает, что полиплоидия является важным приспособительным звеном в адаптации клеток к изменяющимся условиям (Рэфф, Кофмен, 1986). Явление полиплоидии в настоящее время достаточно хорошо описано на уровне ЭСК (Terada et al., 2002; Ying, et al., 2002).

Способность СК взрослого организма продуцировать гигантское количество прогениторных клеток вызывает много вопросов с позиции биологической целесообразности, т.к. возрастает риск их трансформации в опухолевые элементы.

Одним из механизмов ограничения пролиферации избыточного количества СК может быть формирование гибридов путем их слияния с окружающими клеточными формами. Образовавшийся гибрид, по-видимому, имеет ограниченный пролиферативный потенциал, и может проявлять повышенную функциональ-

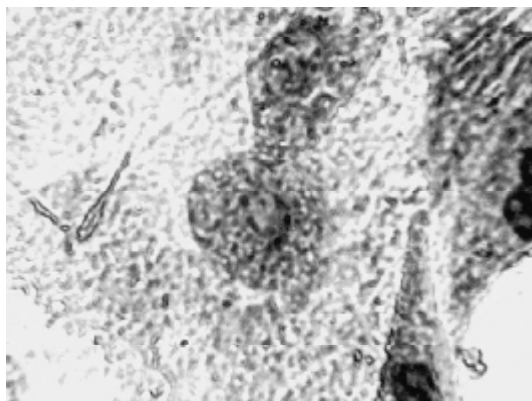


Рис. 2.31. Полиплоидная гигантская клетка, выросшая из костного мозга мышей линии СВА на 8-е сутки культивирования. В ядре видно удвоенное количество конденсированных хроматид. Окраска азур II-эозином. Ув. 800х

ную активность. Отдельные этапы слияния МСК в культуре представлены на рис. 2.32.

Следует отметить, что в обычных условиях слияние клеток встречается чрезвычайно редко, не более одного на $(1-10) \times 10^4$ кариоцитов. При этом гибридные кариоциты напоминали по морфологии эпителиоидные элементы, имели крупное ядро с многочисленными ядрышками и тетраплоидное количество хромосом. В наших опытах частота слияния составляет около 1×10^3 , что почти на порядок превышает таковые величины, наблюдаемые у ЭСК. Впервые единичные полиплоидные клетки появляются на 5–7-е сутки культивирования в результате тесного контакта округлых клеток. Затем появившиеся тетраплоидные клетки увеличивают свое количество за счет деления (рис. 2.32), образуя скопление крупных клеток. Именно они, по-видимому, колонизируются незрелыми МСК, образуя сложные клеточные ассоциации в виде островков или колоний. Однако мы не имели возможности проведения кинетических исследований с постоянным мониторингом роста клеток в культуре ткани. Вследствие этого нельзя исключить и того, что островки образуются одновременно с процессом слияния клеток, а колонии являются результатом последовательной репликации МО. Являются ли эти полиплоидные клетки полноценными элементами? Сохраняют ли они

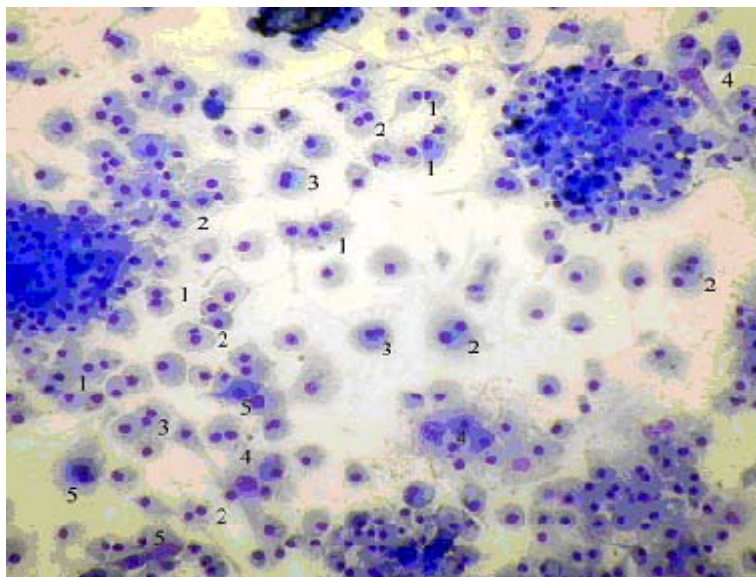


Рис. 2.32. Процесс слияния мезенхимальных клеток в 12-суточной культуре костного мозга мышей линии Balb/c: 1 – этап сближения клеток, 2 – объединение цитоплазмы и формирование двуядерных клеток, 3 – слияние ядер, 4 – формирование полиплоидной клетки, 5 – деление полиплоидной клетки. Окраска азур II-эозином. Ув. 400х

свойства исходных МСК? Происходит ли аналогичный процесс *in vivo*? Несут ли в себе потенциальную угрозу для организма в виде опухолевой или иной трансформации? Можно ли их использовать при проведении клеточной и регенераторной терапии?

Все это пока остается непонятным и требует всестороннего изучения. Ряд авторов считает, что пластичность СК может быть обусловлена формированием полиплоидных клеток, которые, как известно, обладают более высокой функциональной активностью.

Феномен слияния ЭСК с нервными, кроветворными, мышечными клетками чрезвычайно редок даже в системе *in vitro*. Имеет ли место данное явление в живом организме, остается неясным. Возможно, именно таким путем образуются полиплоидные клетки в печени или сердечной ткани. Все эти моменты требуют проведения более углубленного исследования при разработке

стратегии и тактики проведения клеточной терапии (Рэфф, Кофмен, 1986; Terada et al., 2002; Ying, et al., 2002).

Мы не исключаем того, что полиплоидные МСК приобретают новые качества, обеспечивающие их высокую пластичность. Однако, с нашей точки зрения, эти клетки выполняют роль "регулятора", клетки-"няньки" для окружающих их МСК. Подтверждением тому, что в состав мезенхимальных клеток входят стволовые клетки, послужили опыты, в которых МО, полученные на 8–10-е сутки культивирования, извлекали с помощью раствора трипсина и ЭДТА и переносили в чашки Петри. После чего с помощью микроманипулятора вылавливали отдельные островки, содержащие не менее 16 кариоцитов, т.е. прошедшие не менее 4 генераций, и механически диссоциировали на отдельные клетки. Клетки культивировали еще 10–14 суток в среде D-МЕМ с низким содержанием глюкозы, 10% ЭТС, гентамицином, L-глутамином, 10^{-6} М дексаметазоном при 37 °С, 100% влажности и 5% CO₂. Замену среды проводили каждые 4–5 суток. В результате было установлено, что в составе МО есть прогениторные стволовые клетки, способные формировать колонии, состоящие из фибробластоподобных клеток (рис. 2.33). При этом наблюдалась дозовая зависимость между количеством вводимых в культуру клеток, выделенных из мезенхимальных островков, и коли-

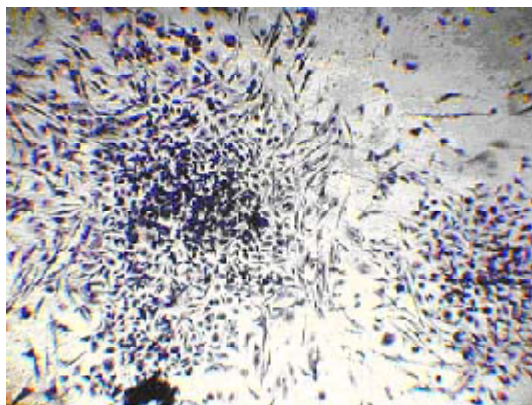


Рис. 2.33. Две колонии фибробластоподобных клеток, выросших из МО костного мозга мышей линии C57Bl/6 на 14-е сутки культивирования после репосева. Окраска азур-гемаоксилином. Ув. 100х

чеством образовавшихся из них КОЕф (табл. 2.8). Мы ожидали более высокий выход КОЕф, однако число МСК в островках, способных к формированию колоний, варьировало в пределах 4–12%. Очевидно, часть МСК относится к некоммитированному пулу или встали на путь глубокой дифференцировки.

Между центральной клеткой и окружающими ее мезенхимальными элементами существуют тесные межклеточные контакты (рис. 2.26–2.29), что, очевидно, указывает на их структурную взаимосвязь. Еще одним доказательством функционального взаимодействия ЦК с окружающими ее клетками является поведение данных образований в колониях. Оказалось, что часть колоний состоит из многочисленных МО (рис. 2.34).

Таблица 2.8

Дозовая зависимость между количеством вводимых в культуру клеток, выделенных из мезенхимальных островков, и количеством образовавшихся из них КОЕф на 14-е сутки культивирования ($\bar{X} \pm m$, Pt)

N/N, группы	Количество вводимых клеток	Количество, КОЕф
1	50	$8,1 \pm 0,3$
2	72	$12,3 \pm 1,9$
3	96	$26,0 \pm 3,5^*$
4	145	$33,7 \pm 3,7^*$

Примечание: * – значения $P < 0,05$ по сравнению с первой группой.

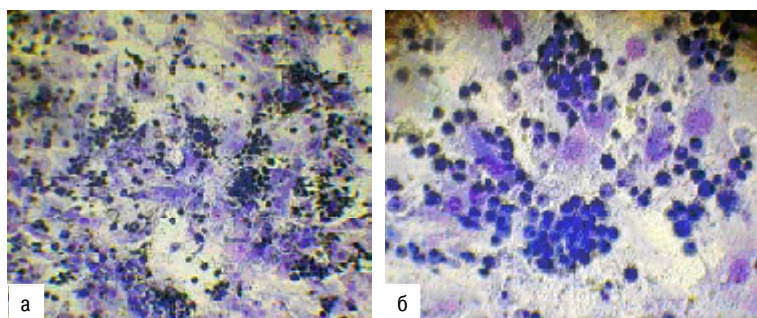


Рис. 2.34. Фрагменты колоний, выросших на 7-е (а) и 10-е (б) сутки культивирования клеток костного мозга мышей линии СВА, состоящих из многочисленных мезенхимальных островков. Ув. 200х (а), 400х (б), окраска гематоксилин-эозином

На ранних стадиях (7–10-е сутки) своего развития центральные клетки окружены многочисленными незрелыми МСК, которые со временем начинают дифференцироваться и превращаться в зрелые элементы, морфологически соответствующие всем вышеуказанным линиям, включая миоциты (рис. 2.35). Постепенно дифференцированные клетки покидают колонии (14–24-е сутки) (рис. 2.36). Интересно, что внутри колонии между центральными клетками обнаруживаются скопления незрелых мезенхимальных элементов, напоминающих кластеры (рис. 2.34). Возможно, именно такое строение имеет ниша в костном мозге млекопитающих. Следует отметить, что в колониях количество ЦК составляет около 12–18% от всей клеточной популяции (Шахов и др., 2003, 2004).

Начиная с 14-х суток, часть ЦК утрачивают свою округлую форму и образуют многочисленные цитоплазматические отростки, которые контактируют с аналогичными клеточными формами, расположенными рядом. Образуется сложная многомерная структура, напоминающая эмбриональную мезенхиму (рис. 2.37).

Следует отметить, что около 1–5% МО сохраняют свою изначальную форму и содержат в своем составе округлые недифференцированные клетки. Возможно, что они таким образом "консервируют" МСК, оставляя их в G_0 -фазе клеточного цикла.

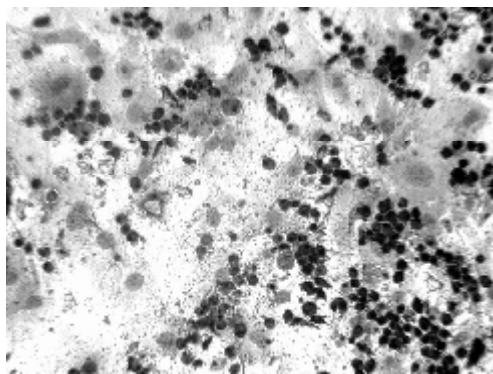


Рис. 2.35. Колония, выросшая на 14-е сутки (а) и на 10-е сутки (б) культивирования клеток костного мозга мышей линии СВА, состоящая из многочисленных мезенхимальных островков. Ув. 400х, окраска гематоксилин-эозином

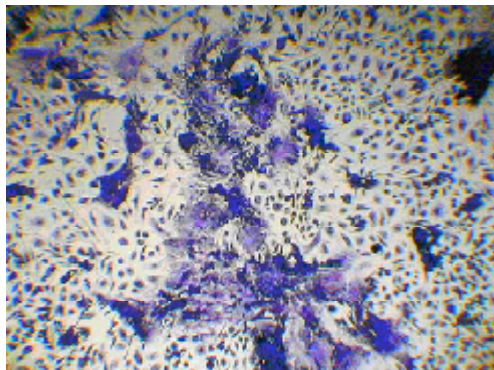


Рис. 2.36. Колония, выросшая на 24-е сутки культивирования клеток костного мозга мышей линии СВА, состоящая из многочисленных мезенхимальных островков. Ув. 400х, окраска гематоксилин-эозином

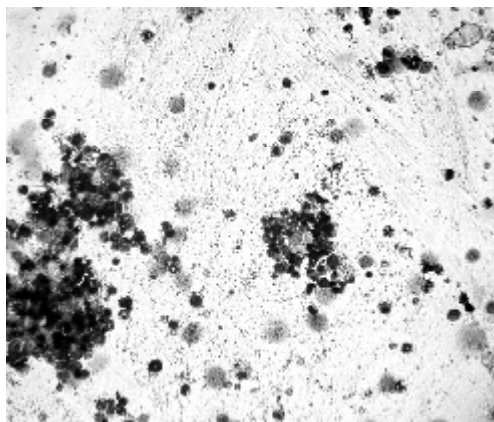


Рис. 2.37. Мезенхимальные островки, выросшие из клеток костного мозга больного К. на 14-е сутки культивирования. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 200х

Мезенхимальные островки обнаруживаются не только у мышей различных линий или их гибридов, но и при культивировании костномозговых клеток крыс и человека (рис. 3.37). В пос-

леднем случае получить данные образование труднее, т.к. при выделении клеток костного мозга, по-видимому, часть МСК теряется. При этом, если количество островков у мышей и крыс составляет около $(50-60) \times 10^4$ адгезирующих клеток в культуре ткани, то у людей эта величина равна $(1-3) \times 10^5$.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что в системе *in vitro* млекопитающих обнаруживаются специфические образования – мезенхимальные островки. Они состоят из центральной полиплоидной клетки, окруженной округлыми мезенхимальными кариоцитами разной степени зрелости. Период развития островков в данной системе достаточно короток и обычно не превышает 24 суток, по крайней мере, в нашей системе культивирования. Однако этого времени достаточно для образования более зрелых элементов. Вопрос о том, существуют ли подобные структуры в живом организме (как в эмбриогенезе, так и постнатальном периоде в норме и патологии), остается открытым и требует более углубленного изучения.

Исходя из полученных данных, теоретически можно определить, какое количество МО может находиться в костном мозге человека и животных в обычных условиях. Если учитывать тот факт, что большая часть МО содержит от 16 до 50 кариоцитов, которые можно отнести к категории МСК, то число мезенхимальных островков должно быть не менее чем в 10 раз ниже количества вышеуказанных мультипотентных клеток. В среднем число МСК в костном мозге составляет $(1-15) \times 10^6$ клеток, в зависимости от возраста. Следовательно, содержание МО должно варьировать в пределах $(1-5) \times 10^7$ кариоцитов. При этом следует помнить, что центральная клетка может быть в неактивном состоянии или взаимодействовать с более 100 мезенхимальными стволовыми клетками. Тогда число данных образований может быть увеличено на порядок. В любом случае, количество МО слишком мало, чтобы в нормальном костном мозге можно было выявить данные образования. Для того, чтобы найти мезенхимальные островки в кроветворной ткани, следует вызвать ее опустошение, например, с помощью облучения или цитостатиков. Данное воздействие, с одной стороны, снизит клеточность костного мозга в десятки или даже сотни раз, а с другой – вызовет стимуляцию механизмов регенераторной регенерации. Можно полагать, что в этот процесс включатся и МСК, по крайней мере, их коммитированный пул, с переходом их из состояния покоя в активный митотический цикл и увеличением числа "ниш", в которых они будут проходить процессы пролиферации и дифферен-

цировки (Шахов и др., 2004; Berardi et al., 1995; Juan, Darzynkiewicz, 1998; Iwata et al., 1999).

Для проверки этого положения опыты были проведены на 35 мышах-самцах линии Balb/c с массой 18–21 г. Животным внутривенно вводили 5-фторурацил (Дарница, Украина) в дозе 300 мг/кг. Через 1, 2, 3, 4, 6 и 7 суток из бедра извлекали костный мозг, определяли клеточность, делали миелограмму. Часть ткани костного мозга инкубировали 30–40 мин при 37 °С в среде RPMI-1640 с 1% коллагеназы, 0,5% ДНКазы для выделения островков. Динамика общей клеточности костного (ОКК) и числа островков представлена в табл. 2.9.

Оказалось, что при введении цитостатика у животных наблюдается глубокая депрессия кроветворения с уменьшением количества миелокариоцитов в костном мозге с пиком на 1–2-е сутки опыта (табл. 2.9). При этом, уже начиная с первых суток, в гемопоэтической ткани наблюдались гигантские клетки, не являющиеся макрофагами, ретикулярными элементами, мегакариоцитами, остеобластами или остеокластами, имеющие, по-видимому, также двойной набор хромосом (рис. 2.38). Максимального числа они достигают к 3-м суткам, после чего постепенно исчезают (к 7-му дню наблюдения). Интересно, что, наряду с обычными кроветворными островками, число которых падает пример-

Таблица 2.9

Динамика общей клеточности костного (ОКК) и числа островков в костном мозге мышей линии Balb/c после введения 5-фторурацила ($\bar{X} \pm m$, Pt)

Время наблюдений	ОКК $\times 10^6$	Гигантские клетки 10^4	Островки, $\times 10^4$	
			гемопоэтические	содержащие гигантские клетки
Контроль без введения 5-ФУ	19,1 $\pm$ 1,7	0	55,1 $\pm$ 1,7	0
1-е сут.	4,5 $\pm$ 0,3*	7,1 $\pm$ 2,1*	4,1 $\pm$ 0,3*	1,2 $\pm$ 0,1
2-е сут.	6,1 $\pm$ 0,3*	9,3 $\pm$ 1,9*	6,3 $\pm$ 0,9*	3,3 $\pm$ 0,3*
3-и сут.	11,5 $\pm$ 1,1*	11,5 $\pm$ 2,3*	15,1 $\pm$ 1,6*	5,6 $\pm$ 1,9*
4-е сут.	10,1 $\pm$ 2,5*	5,5 $\pm$ 1,8	26,7 $\pm$ 2,9*	7,3 $\pm$ 1,3*
6-е сут.	12,9 $\pm$ 3,7	2,9 $\pm$ 0,5	33,3 $\pm$ 4,5	2,9 $\pm$ 2,0
7-е сут.	14,3 $\pm$ 2,3	0	35,3 $\pm$ 3,9	1,4 $\pm$ 0,6

Примечание: * – Pt<0,05.

но в 10 раз, появляются ассоциации, состоящие из гигантских кариоцитов, окруженных короной клеток. Однако, в отличие от системы *in vitro*, в живом организме данный тип островков содержал не только гемопоэтические, но и единичные округлые клетки и фибробластoidные элементы (рис. 2.38, 2.39).

Так как не было проведено специфических маркерных реакций, определяющих фенотип и функциональную активность, например, с помощью CD 34, 44 моноклональных антител или со-

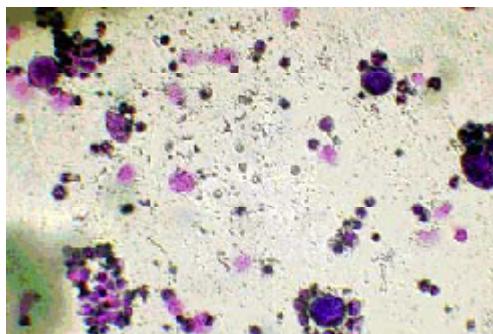


Рис. 2.38. Гигантские клетки, выявляемые в костном мозге мышей линии Balb/C на 2-е сутки после введения 5-фторурацила. Окраска азур II-эозином. Ув. 100х

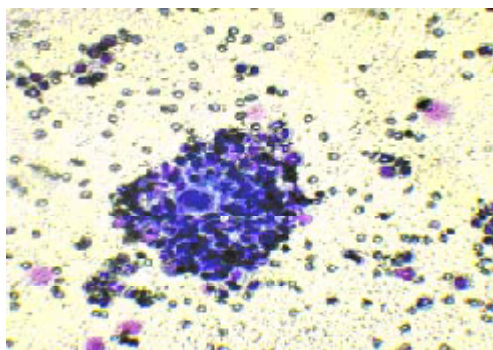


Рис. 2.39. Островок, выделенный из костного мозга мышей линии Balb/C на 3-и сутки после введения 5-фторурацила. Окраска азур II-эозином. Ув. 200х

ответствующего ПЦР-анализа, мы не можем однозначно утверждать, что данные структурно-анатомические единицы идентичны МО, выявляемым в системе *in vitro*. Кроме того, ферментная обработка костного мозга в том режиме, который был нами использован, не сохраняет тонкие межклеточные взаимодействия между МСК и окружающих их стромой. В дальнейшем мы планируем усовершенствовать данную технологию и провести более углубленное изучение гигантских клеток и их роли в мезенхимопозе *in vivo*. Тем не менее, эти данные подтверждают предположение, что при опустошении костного мозга в нем в фазе регенерации появляются структурные клеточные ассоциации, отличающиеся по своей структуре и организации от классических эритроидных и гемопозитических островков (Шахов и др., 2004; Shakhov et al., 2004).

КРАТКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая представленный в данной главе материал, можно сделать вывод, что мезенхимопоз представляет собой сложный многоступенчатый процесс коммитирования и постоянного ограничения способности пролиферации и дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток с образованием специализированных форм – кардиомиоцитов, миоцитов, гладкомышечных клеток, хондроцитов и др. При этом благодаря пластичности МСК их чрезвычайно трудно рекрутировать в кардиомиоциты с помощью стандартных химических агентов для клеточной терапии. Именно пластичность и отсутствие четких планов экспрессии мастер-генов, ответственных за проявление мышечного фенотипа, приводит к тому, что МСК вместо КМЦ способны образовывать адипоциты, скелетные и гладкомышечные волокна или грубую рубцовую и даже костную ткани. Возможно, что именно этот феномен объясняет тот факт, что предсердные, а также циркулирующие МСК не способны включить адекватный механизм репарации и регенерации тканей, например, после острого инфаркта миокарда. Необходимо более детально разработать технологию получения и подготовки МСК к клеточной терапии больных с патологией сердца, ограничивающих в них вероятность спонтанной передифференцировки в нежелательном направлении, чтобы исключить возможность получения вместо стимуляции кардиомиогенеза и ангиогенеза усиления роста рубца или жировой ткани. Более детально эти вопросы будут рассматриваться в 3-й главе данной монографии.