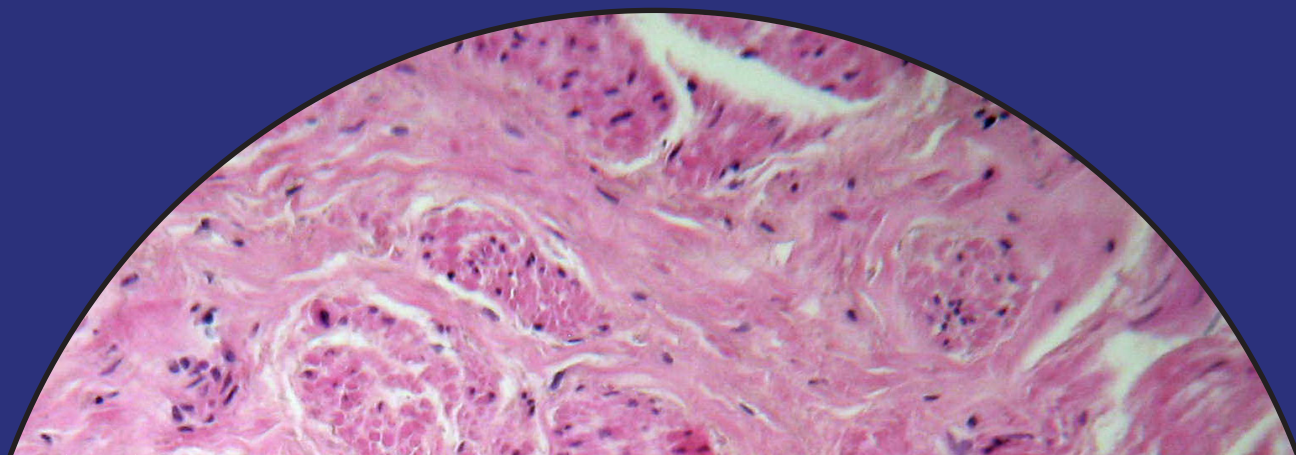


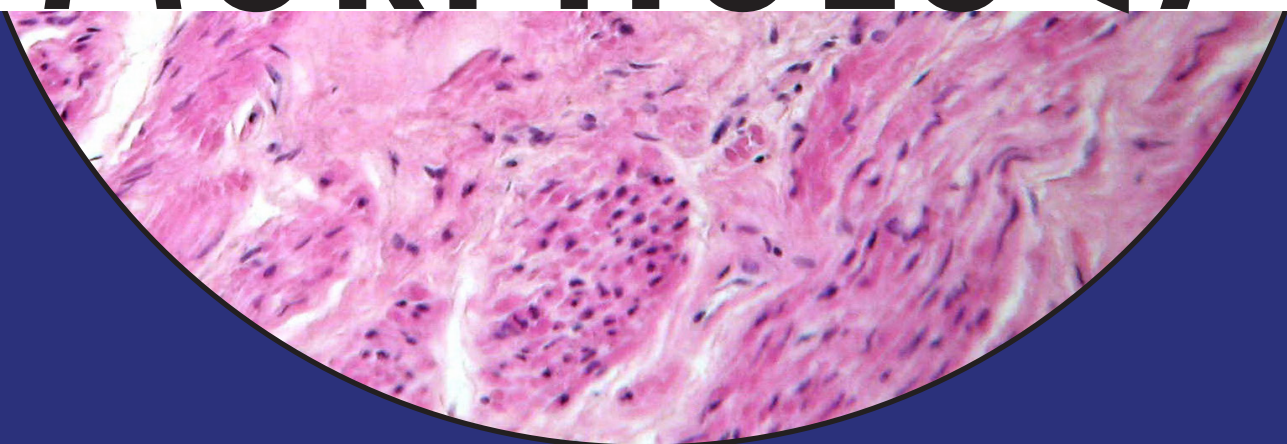
Научно-теоретический
медицинский
журнал

ISSN 1026-3543



МОРФОЛОГИЯ

MORPHOLOGY



УЧРЕДИТЕЛЬ

Российская академия медицинских наук

ИЗДАТЕЛЬ

000 «Эко-Вектор»

Адрес: 191186, г. Санкт-Петербург,

Аптекарский переулок, д. 3,

литера А, помещение 1Н

E-mail: info@eco-vector.com

WEB: <https://eco-vector.com>

РЕКЛАМА

Отдел рекламы

Тел.: +7 495 308 83 89

E-mail: adv@eco-vector.com

РЕДАКЦИЯ

Зав. редакций

Виктор Александрович Гинзбург

E-mail: morphology-spb-msk@eco-vector.com

Тел.: +7 (926) 204-83-26

Адрес: 127349, Москва, Шенкурский пр.-д,

3Б, оф. 311

ПОДПИСКА

Подписка на печатную версию
через интернет:

- <https://j-morphology.com/>

- <https://www.akc.ru/>

- <https://www.pressa-rf.ru/>

OPEN ACCESS

В электронном виде журнал
распространяется бесплатно – в режиме
немедленного открытого доступа

ИНДЕКСАЦИЯ

- RSCI (Web of Science)
- РИНЦ
- Google Scholar
- Ulrich's International Periodicals
Directory
- WorldCat

Журнал зарегистрирован Федеральной службой
по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций
(Роскомнадзор), свидетельство о регистрации СМИ
№ 0110212 от 08 февраля 1993 г.

Возрастная категория 16+

Оригинал-макет

подготовлен в издательстве «Эко-Вектор».

Литературный редактор: М.В. Старицына

Корректор: М.В. Старицына

Верстка: А.Г. Мальцина

Сдано в набор 20.09.2022

Подписано в печать 04.10.2022

Формат 60 × 88%. Печать офсетная. Печ. л. 8.

Усл. печ. л. 7,4. Уч.-изд. л. 4,4.

ISSN 1026-3543 (Print)

МОРФОЛОГИЯ

Том 159 | Выпуск 3 | 2021

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

Главный редактор

Банин Виктор Васильевич, чл.-кор. РАН, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

ORCID: 0000-0003-0374-0576

Заместители главного редактора

Ключкова Светлана Валерьевна, д.м.н., проф. (Москва, Россия) ORCID: 0000-0003-2041-7607

Обухов Дмитрий Константинович, д.биол.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0001-7233-0752

Чехонин Владимир Павлович, акад. РАН, д.м.н., проф. (Москва, Россия) ORCID: 0000-0003-4386-7897

Научные редакторы

Вихрук Тамара Ивановна, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия)

Цехмистренко Татьяна Александровна, д.биол.н., проф. (Москва, Россия) ORCID: 0000-0003-2130-9405

Редакционная коллегия

Алексеева Наталия Тимофеевна, д.м.н., проф. (Воронеж, Россия) ORCID: 0000-0003-1510-8543

Баженов Дмитрий Васильевич, д.м.н., проф. (Тверь, Россия) ORCID: 0000-0001-5160-7652

Боголепов Николай Николаевич, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Быков Владимир Лазаревич, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0002-4152-9774

Верин Владимир Константинович, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия)

Гайворонский Иван Васильевич, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0003-2531-3807

Карелина Наталья Рафаиловна, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0001-9409-8819

Киясов Андрей Павлович, д.м.н., проф. (Казань, Россия) ORCID: 0000-0003-4460-4140

Козлов Валентин Иванович, д.м.н., проф. (Москва, Россия) ORCID: 0000-0001-6332-748X

Коржевский Дмитрий Эдуардович, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0002-2456-8165

Кузнецов Сергей Львович, д.м.н., проф. (Москва, Россия) ORCID: 0000-0002-0704-1660

Никитюк Дмитрий Борисович, д.м.н., проф. (Москва, Россия) ORCID: 0000-0002-4968-4517

Николенко Владимир Николаевич, д.м.н., проф. (Москва, Россия) ORCID: 0000-0001-9532-9957

Ноздрин Владимир Иванович, д.м.н., проф. (Орёл, Россия) ORCID: 0000-0001-8488-0778

Одинцова Ирина Алексеевна, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0002-0143-7402

Отеллин Владимир Александрович, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0002-5800-646X

Павлов Алексей Владимирович, д.м.н., проф. (Ярославль, Россия)

Сесорова Ирина Сергеевна, д.биол.н., проф. (Иваново, Россия) ORCID: 0000-0001-8993-9927

Слесаренко Наталья Анатольевна, д.биол.н., проф. (Москва, Россия) ORCID: 0000-0002-8350-5965

Сотников Олег Семёнович, д.биол.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0001-6065-3757

Чумасов Евгений Иванович, д.биол.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0003-4859-6766

Удочкина Лариса Альбертовна, д.м.н., проф. (Астрахань, Россия) ORCID: 0000-0001-5016-0633

Шангина Ольга Ратмировна, д.биол.н., проф. (Уфа, Россия) ORCID: 0000-0003-1686-1254

Редакционный совет

Азнаурян Вардан Артасесович, д.м.н., проф. (Ереван, Армения) ORCID: 0000-0001-7787-4046

Беззусенко Галина Владимировна, д.м.н. (Милан, Италия) ORCID: 0000-0002-1876-4098

Николаев Валерий Георгиевич, д.м.н., проф. (Красноярск, Россия) ORCID: 0000-0002-0357-4689

Самусев Рудольф Павлович, д.м.н., проф. (Волгоград, Россия) ORCID: 0000-0002-8934-7793

Дгебуадзе Мая Амбросовна, д.м.н., проф. (Тбилиси, Грузия) ORCID: 0000-0001-7927-7800

Семченко Валерий Васильевич, д.м.н., проф. (Омск, Россия) SCOPUS Author ID: 7005656558

Дубовая Татьяна Клеопиковна, д.м.н., проф. (Москва, Россия) ORCID: 0000-0001-7936-180X

Стадников Александр Абрамович, д.биол.н., проф. (Оренбург, Россия) ORCID: 0000-0001-6786-5074

Усович Александр Константинович, д.м.н., проф. (Витебск, Белоруссия) ORCID: 0000-0002-7817-1083

Зашихин Андрей Леонидович, д.м.н., проф. (Архангельск, Россия)

Фомин Николай Федорович, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, Россия) ORCID: 0000-0003-3961-1987

Каган Илья Иосифович, д.м.н., проф. (Оренбург, Россия) ORCID: 0000-0002-7723-7300

Мионов Александр Александрович, д.м.н., проф. (Милан, Италия) ORCID: 0000-0003-2308-1651

Челышев Юрий Александрович, д.м.н., проф. (Казань, Россия) SCOPUS Author ID: 6603614074

Чучков Виктор Михайлович, д.м.н., проф. (Ижевск, Россия) ORCID: 0000-0002-9959-689X

Шадлинский Вагиф Билас, д.м.н., проф. (Баку, Азербайджан) ORCID: 0000-0002-9296-5963

Логвинов Сергей Валентинович, д.м.н., проф. (Томск, Россия) ORCID: 0000-0002-9876-6957

Мяделец Олег Данилович, д.м.н., проф. (Витебск, Белоруссия) ORCID: 0000-0001-8796-052X

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов. Направляя статью в редакцию, авторы принимают условия договора публичной оферты. С правилами для авторов и договором публичной оферты можно ознакомиться на сайте: <https://j-morphology.com/>. Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения издателя — издательства «Эко-Вектор».



FOUNDERS

Russian Academy of Medical
Sciences

PUBLISHER

Eco-Vector

Address: 3 liter A, 1H, Aptekarsky pereulok,
191186, Saint Petersburg, Russian
Federation
E-mail: info@eco-vector.com
WEB: <https://eco-vector.com>

ADVERTISE

Adv. department

Phone: +7 (495) 308 83 89
E-mail: adv@eco-vector.com

EDITORIAL

Executive editor

Viktor A. Ginzburg
E-mail: morphology-spb-msk@eco-vector.com
Phone: +7 (926) 204-83-26
Address: off.311, Shenkursky pr, 3B,
Moscow, 127349, Russian Federation

SUBSCRIPTION

For print version:
www.journals.eco-vector.com/

PUBLICATION ETHICS

Journal's ethic policies are based on:

- ICMJE
- COPE
- ORE
- CSE
- EASE

OPEN ACCESS

Immediate Open Access is
mandatory for all published
articles

INDEXATION

- Russian Science Citation Index
(Web of Science)
- Google Scholar
- Ulrich's International Periodicals
Directory
- WorldCat

TYPESET

complete in Eco-Vector
Copyeditor: *M.V. Staritsyna*
Proofreader: *M.V. Staritsyna*
Layout editor: *A.G. Maltcina*

ISSN 1026-3543 (Print)

MORPHOLOGY

Volume 159 | Issue 3 | 2021

QUARTERLY PEER-REVIEW MEDICAL JOURNAL

Editor-in-Chief

Victor V. Banin, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0003-0374-0576.

Deputy Editors-in-Chief

Svetlana V. Klochkova, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0003-2041-7607
Dmitry K. Obukhov, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (St. Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0001-7233-0752
Vladimir P. Chekhonin, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0003-4386-7897

Science Editors

Tamara I. Vikhruk, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (St. Petersburg, Russia)
Tatiana A. Tsekhmistrenko, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0003-2130-9405

Editorial Board

Natalia T. Alexeyeva, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Voronezh, Russia) ORCID: 0000-0003-1510-8543
Dmitry V. Bazhenov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Tver, Russia) ORCID: 0000-0001-5160-7652
Nikolay N. Bogolepov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)
Vladimir L. Bykov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (St. Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0002-4152-9774
Vladimir K. Verin, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (St. Petersburg, Russia)
Ivan V. Gaivoronskiy, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (St. Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0003-2531-3807
Natalia R. Karelina, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (St. Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0001-9409-8819
Andrey P. Kiyasov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Kazan, Russia) ORCID: 0000-0003-4460-4140
Valentin I. Kozlov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0001-6332-748X
Dmitry E. Korzhovskiy, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (St. Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0002-2456-8165
Sergey L. Kuznetsov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0002-0704-1660
Dmitry B. Nikityuk, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0002-4968-4517
Vladimir N. Nikolenko, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0001-9532-9957
Vladimir I. Nozdrin, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Orel, Russia) ORCID: 0000-0001-8488-0778
Irina A. Odintsova, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (St. Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0002-0143-7402
Vladimir A. Otellin, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (St. Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0002-5800-646X
Alexey V. Pavlov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Yaroslavl, Russia)
Irina S. Sesorova, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Ivanovo, Russia) ORCID: 0000-0001-8993-9927
Natalia A. Slesarenko, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0002-8350-5965
Oleg S. Sotnikov, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (St. Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0001-6065-3757
Yevgeny I. Chumasov, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (St. Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0003-4859-6766
Larisa A. Udchikina, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Astrakhan, Russia) ORCID: 0000-0001-5016-0633
Olga R. Shangina, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Ufa, Russia) ORCID: 0000-0003-1686-1254

Editorial Council

Vardan A. Aznauryan, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Yerevan, Armenia) ORCID: 0000-0001-7787-4046
Galina V. Beznoussenko, MD, PhD (Milan, Italy) ORCID: 0000-0002-1876-4098
Valerian G. Nikolaev, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Krasnoyarsk, Russia) ORCID: 0000-0002-0357-4689
Rudolf P. Samusev, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Volgograd, Russia) ORCID: 0000-0002-8934-7793
Maia A. Dgebuadze, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Tbilisi, Georgia) ORCID: 0000-0001-7927-7800
Valery V. Semchenko, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Omsk, Russia) SCOPUS Author ID: 7005656558
Tatiana K. Dubovaya, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia) ORCID: 0000-0001-7936-180X
Alexander A. Stadnikov, MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Orenburg, Russia) ORCID: 0000-0001-6786-5074
Alexandre Mironov, MD, PhD, Prof. (Milan, Italy) ORCID: 0000-0003-2308-1651
Aleksander K. Usovich, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Vitebsk, Belarus) ORCID: 0000-0002-7817-1083
Andrey L. Zashikhin, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Arkhangelsk, Russia)
Nikolay F. Fomin, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Saint Petersburg, Russia) ORCID: 0000-0003-3961-1987
Ilia I. Kagan, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Orenburg, Russia) ORCID: 0000-0002-7723-7300
Yuriy A. Chelyshev, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Kazan, Russia) SCOPUS Author ID: 6603614074
Viktor M. Chuchkov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Izhevsk, Russia) ORCID: 0000-0002-9959-689X
Vaqif B. Shadlinsky, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Baku, Azerbaijan) ORCID: 0000-0002-9296-5963
Sergey V. Logvinov, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Tomsk, Russia) ORCID: 0000-0002-9876-6957
Oleg D. Miadelets, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Vitebsk, Belarus) ORCID: 0000-0001-8796-052X

The editors are not responsible for the content of advertising materials. The point of view of the authors may not coincide with the opinion of the editors. Only articles prepared in accordance with the guidelines are accepted for publication. By sending the article to the editor, the authors accept the terms of the public offer agreement. The guidelines for authors and the public offer agreement can be found on the website: <https://j-morphology.com/>. Full or partial reproduction of materials published in the journal is allowed only with the written permission of the publisher — the Eco-Vector publishing house.

СОДЕРЖАНИЕ

НАУЧНЫЕ ОБЗОРЫ

О.Ю. Потоцкая, Е.Н. Шевченко

Сравнительная характеристика стволовых клеток человека 75

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Р.В. Янко, М.И. Левашов

Морфологические изменения щитовидной железы крыс разного возраста
после введения метионина 99

М.М. Сальникова, В.Р.Саитов, А.И. Яковлева, А.И. Голубев

Ультраструктура клеток коры головного мозга крыс в норме
и при экспериментальном отравлении диоксином. 107

А.Н. Стрелков, А.Ф. Астраханцев, С.В. Снегур

Макромикроскопическое исследование клапанов
глубокой дорсальной вены полового члена человека. 117

С.В. Куликов, И.С. Шорманов, А.С. Соловьёв

Морфологическая перестройка мочевого пузыря
в процессе возрастной инволюции. 125

CONTENTS

REVIEWS

Olha Yu. Pototska, Ekaterina N. Shevchenko
Comparative characteristics of human stem cells 75

ORIGINAL STUDY ARTICLES

Roman V. Yanko, Mikhail I. Levashov
Morphological changes in the thyroid gland of rats
of different age after administration of methionine 99

Marina M. Salnikova, Anastasia I. Yakovleva, Vadim R. Saitov, Anatoliy I. Golubev
Ultrastructure of rat cerebral cortex cells in normal
and experimental dioxin poisoning 107

Aleksey N. Strelkov, Aleksander F. Astrakhantsev, Svetlana V. Snegur
Macro-microscopic examination of the valves
of the deep dorsal vein of the human penis 117

Sergey V. Kulikov, Igor S. Shormanov, Andrey S. Solovyev
Morphological reconstruction of the bladder
in the process of age-related involution 125

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110833>

Сравнительная характеристика стволовых клеток человека

О.Ю. Потоцкая, Е.Н. Шевченко

Днепропетровский государственный медицинский университет, Днепр, Украина

АННОТАЦИЯ

Терапия стволовыми клетками (СК) является одним из наиболее перспективных методов в практической медицине. Продукты на основе СК активно изучаются в клинических испытаниях, а некоторые из них уже официально разрешены к применению во многих странах мира. Столь быстро развивающееся направление современной медицины должно быть адекватно отражено в образовательных программах медицинских вузов для формирования базовых представлений о свойствах СК, их возможностях и потенциальных рисках.

Цель данной статьи состоит в сравнительном анализе разновидностей СК человека, способов их получения и перспектив использования.

СК можно разделить на основные группы в зависимости от срока развития организма-донора. Эмбриональные СК выделяют из бластоцисты, полученной в результате экстракорпорального оплодотворения, клонирования, полуклонирования или партеногенеза (гиногенетические и андрогенетические СК). Фетальные СК могут быть выделены из тканей зародыша и плода до момента рождения или в результате процедур по прерыванию беременности (в том числе эктопической). В составе фетальных СК выделяют перинатальные экстраэмбриональные, которые получают из внезародышевых органов (пуповины, амниона, плаценты) после родов; среди них различают гемопозитические, мезенхимальные, эпителиальные и децидуальные. Зрелые (соматические, тканеспецифические) СК могут быть выделены из различных тканей и органов зрелого организма на протяжении всей жизни. Их свойства зависят от места локализации, а также возраста пациента. Дополнительно СК могут быть созданы искусственным путём из дифференцированных клеток за счёт модификации генной экспрессии; они выделены в группу индуцированных плюрипотентных СК. Каждая группа СК является неоднородной, а также обладает рядом преимуществ и недостатков, которые проанализированы в данном обзоре. Также уделено внимание перспективному направлению в использовании экстрацеллюлярных везикул СК в качестве альтернативы клеточной терапии.

Ключевые слова: эмбриональные стволовые клетки; перинатальные экстраэмбриональные стволовые клетки; зрелые (соматические) стволовые клетки; индуцированные плюрипотентные стволовые клетки; экстрацеллюлярные везикулы.

Как цитировать:

Потоцкая О.Ю., Шевченко Е.Н. Сравнительная характеристика стволовых клеток человека // Морфология. 2021. Т. 159, № 3. С. 75–97.

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110833>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110833>

Comparative characteristics of human stem cells

Olha Yu. Pototska, Ekaterina N. Shevchenko

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine

ABSTRACT

Stem cell (SC) therapy is one of the most promising methods of clinical medicine. Although most stem cell-containing products are still being investigated in clinical trials, some of them are already approved for treatment in many countries. Therefore, modern medicine providing basic understanding of SC subtypes, their properties and potential risks should be incorporated in educational programs of medical universities.

The aim of this review is to compare SC types, methods of their procurement, and perspectives of their use.

Stem cells can be grouped according to the age of the donor organism. Embryonic SCs are those isolated from blastocysts, obtained from extracorporeal fertilization, cloning, semi-cloning or parthenogenesis (androgenetic and gynogenetic SCs). Fetal SCs are those isolated from embryonic and fetal tissues before birth or from miscarriage and abortion material (including ectopic pregnancies). Fetal SCs include a special group of perinatal extraembryonic SCs, which are obtained from extraembryonic organs (umbilical cord, amnion, placenta) after birth; among them hematopoietic, mesenchymal, epithelial and decidual cells are distinguished. Adult SCs (somatic or tissue specific) are isolated from different tissues and organs of adult organisms throughout their life. Their properties depend on their location and age of the donor. Additionally, induced pluripotent SCs are created artificially from mature cells by modification of gene expression. Every group of SCs is heterogenous and has its advantages and drawbacks analyzed in this review. Also considered in this review is the application of exosomes produced by stem cells as an alternative to cellular therapy.

Keywords: embryonic stem cells; perinatal extraembryonic stem cells; adult stem cells; induced pluripotent stem cells; extracellular vesicles.

To cite this article:

Pototska OYu, Shevchenko EM. Comparative characteristics of human stem cells. *Morphology*. 2021;159(3):75–97.

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110833>

Received: 19.01.2021

Accepted: 08.06.2022

Published online: 16.09.2022

ВВЕДЕНИЕ

Стволовые клетки (СК) часто сравнивают с двуликим Янусом, поскольку они сочетают в себе довольно противоположные качества: в норме обеспечивают рост и регенерацию тканей на протяжении всей жизни организма, а при патологических обстоятельствах могут выступать источником развития опухолей. Это усложняет развитие методов регенеративной медицины и противоопухолевой терапии, поскольку стремление стимулировать СК для омоложения и восстановления организма ограничивается риском развития опухоли, а желание уничтожить опухоль лимитировано возможностью одновременного

снижения регенеративного потенциала всего организма. Таким образом, СК являются объектом исследования двух актуальных направлений науки — регенеративной медицины и онкологии, что и обуславливает большой интерес к данной проблематике. Так, по состоянию на июль 2019 г. в одной из наиболее авторитетных баз данных медицинской литературы PubMed за 2018 г. по поисковому запросу stem cells выявляется 22 534 публикации (на рис. 1 представлена динамика этого показателя за последние 20 лет).

В табл. 1 приведены данные по количеству клинических испытаний с использованием разных видов СК во всём мире, которые свидетельствуют о высокой

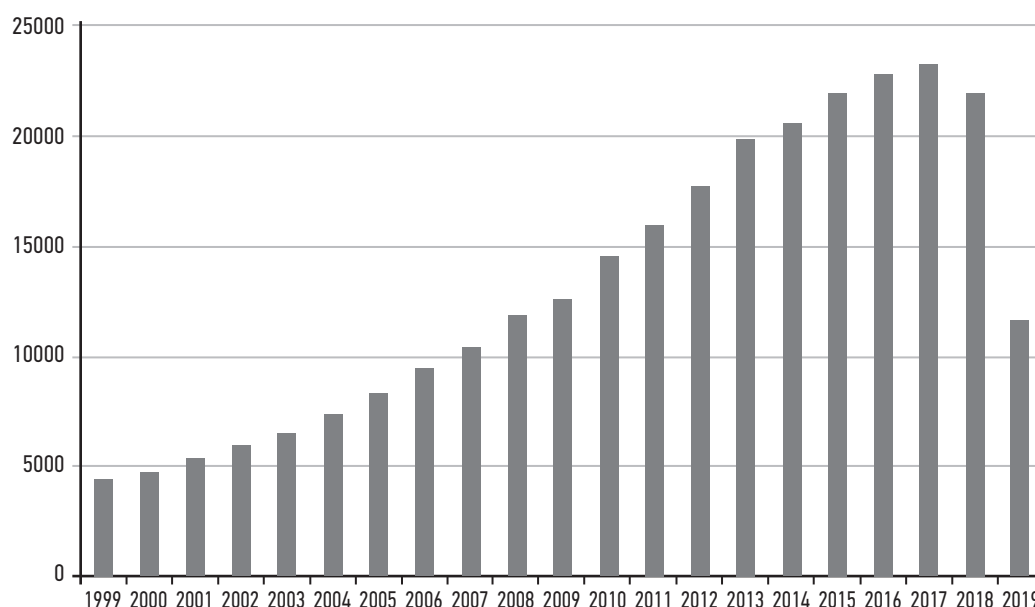


Рис. 1. Количественное распределение публикаций с упоминанием стволовых клеток в базе данных PubMed по годам.

Fig. 1. Distribution of publications mentioning "stem cells" in the PubMed database by year of publication.

Таблица 1. Количественное распределение клинических испытаний с использованием стволовых клеток по базам данных (с учетом их разновидностей)

Table 1. Distribution of clinical trials using stem cells across databases (taking into account their varieties)

Источник данных	Стволовые клетки (всего исследований)	Эмбриональные стволовые клетки	Стволовые клетки пуповинной крови	Стволовые клетки костного мозга	Стволовые клетки жировой ткани	Мезенхимальные стволовые/стромальные клетки	Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки	Экстрацеллюлярные везикулы стволовых клеток
ВОЗ (http://apps.who.int/trialsearch/default.aspx)	7136	0	18	125	12	256	29	0
США (https://clinicaltrials.gov/ct2/home)	5210	34	120	1104	198	763/237	52	1
Евросоюз (https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search)	584	0	0	310	34	110/65	0	0
Индия (http://ctri.nic.in/Clinicaltrials/advancesearchmain.php)	46	0	0	2	1	20/2	0	0
Китай (http://www.chictr.org.cn/searchprojen.aspx)	69	0	0	5	0	18	0	0

вероятности внедрения в практическую медицину новых клеточных продуктов на основе СК уже в ближайшем будущем. В настоящее время официальные органы здравоохранения большинства стран допускают использование на практике лишь СК костного мозга или пуповинной крови при узком спектре заболеваний (в основном онкогематологических). Так, на сайте United States Food and Drug Administration в списке одобренных для использования на практике клеточных продуктов значатся 16, большинство из которых связаны с трансплантацией клеток пуповинной крови при заболеваниях, связанных с нарушениями гемопоэза [1]. Там же размещено предостережение для пациентов, акцентирующее внимание на возможности использования лишь одобренных продуктов, входящих в этот перечень, или участия только в официально зарегистрированных клинических испытаниях.

Важно отметить, что во всём мире существует проблема неконтролируемого использования СК частными медицинскими учреждениями, которые агрессивно рекламируют свои услуги, часто умалчивая об отсутствии доказательной базы и возможных побочных эффектах, которые в том числе могут привести к гибели пациента [2].

Приведённые данные свидетельствуют о необходимости формирования адекватного представления о СК у будущих медицинских специалистов ещё в процессе обучения. Для этого в программы практических занятий и лекционных курсов базовых дисциплин медицинских вузов целесообразно внести соответствующие изменения. Например, в программе курса «Гистология, цитология и эмбриология» целесообразно выделить лекцию, посвящённую сравнительной характеристике разных видов СК, возможностям и потенциальным рискам их применения с терапевтической целью.

Целью данной статьи является характеристика и сравнительный анализ разных видов СК человека, способов их получения и перспектив использования в практической медицине.

Определение и классификация стволовых клеток

Понятие «СК» представляет собой довольно гетерогенную группу клеток разного происхождения, объединённую двумя ключевыми свойствами:

- 1) возможностью самовоспроизводиться путём деления;
- 2) возможностью дифференцировки с образованием зрелых специализированных типов клеток [3].

Единой общепринятой классификации СК не существует; в целом среди них различают две основные группы:

- получаемые искусственным путём (**индуцированные плюрипотентные СК — ИПСК**);
- выделенные из живых организмов на разных этапах онтогенеза, которые подразделяются в зависимости от срока развития организма:
 - 1) на **эмбриональные** (выделенные из бластоцисты, ЭСК);
 - 2) **фетальные** (выделенные на более поздних этапах пренатального онтогенеза из относительно дифференцированных тканей зародыша или плода), в их составе различают **перинатальные экстраэмбриональные** (полученные из внезародышевых органов и тканей сразу после родов);
 - 3) **зрелые** СК (находящиеся в составе практически всех тканей зрелого организма и отвечающие за регенерацию) (рис. 2).



Рис 2. Классификация стволовых клеток человека.

Fig. 2. Classification of human stem cells.

Свойства каждой из перечисленных разновидностей СК существенным образом различаются, их преимущества и недостатки приведены в табл. 2. Каждая их групп СК неоднородна и может быть разделена по разным критериям, одним из которых является генетическая тождественность с организмом реципиента. В зависимости от этого все СК можно разделить:

- на **аутологичные** (идентичные реципиенту);
- **аллогенные** (полученные от другой особи того же вида).

Эмбриональные стволовые клетки

По сути, ЭСК являются внутренней клеточной массой предимплантационной бластоцисты и обладают свойствами плюрипотентности, точнее, могут дифференцироваться во все типы клеток зрелого организма. В 1998 г. после многочисленных исследований на животных J.A. Thomson и соавт. выделили ЭСК человека из зародыша, созданного в ходе экстракорпорального оплодотворения для клинических целей, и подтвердили их основные свойства:

- 1) происхождение из предимплантационного эмбриона;
- 2) длительная пролиферация, не сопровождающаяся дифференцировкой;
- 3) стабильный потенциал к развитию производных всех трёх зародышевых листков даже после длительного культивирования [4].

Также авторы отметили высокую активность теломеры и экспрессию поверхностных маркеров, характерных для ЭСК приматов, — стадияеспецифичного эмбрионального антигена (SSEA) 3, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81 и щелочной фосфатазы. По этическим соображениям полученные клетки не стали использовать для создания химерных зародышей, что является дополнительным критерием плюрипотентности ЭСК в экспериментах на животных. Вместо этого для оценки дифференцировочного потенциала человеческих ЭСК был разработан метод, основанный на их неотъемлемом свойстве образовывать тератомы [5, 6]: при трансплантации ЭСК иммунодефицитным мышам (предпочтительно внутримышечно) в образованных тератомах оценивают наличие производных всех трёх эмбриональных листков [7].

Именно свойство ЭСК образовывать тератомы является одним из основных препятствий на пути к их широкому применению, несмотря на значительные преимущества, по сравнению с другими видами СК (высокий пролиферативный потенциал и широкий спектр дифференцировки). Кроме того, существует ряд этических проблем, связанных с процессом выделения ЭСК, поскольку это практически всегда влечёт за собой гибель зародыша человека. Для решения этих проблем разрабатываются альтернативные методы создания бластоцист человека, хотя в большинстве случаев они вызывают ещё большие опасения с точки зрения биоэтики. Способ получения бластоцист в определённой мере накладывает отпечаток на свойства полученных из неё ЭСК, которые на этом основании можно разделить на соответствующие подгруппы.

Эмбриональные стволовые клетки, полученные в результате экстракорпорального оплодотворения

Наиболее распространённым источником человеческих ЭСК выступают зародыши, созданные в ходе процедур экстракорпорального оплодотворения, но не востребованные биологическими родителями. Использование неродственных ЭСК возможно по причине низкой активности экспрессии основных антигенов, включая главный комплекс гистосовместимости I типа, что снижает вероятность их отторжения иммунной системой реципиента [8]. Поскольку методика получения внутренней клеточной массы сопровождается разрушением эмбриона, что сопряжено с нарушением норм биоэтики и догматов ряда религий, для таких целей было предложено использовать отбракованные и нежизнеспособные зародыши [9]. С целью минимизации количества человеческих бластоцист, используемых для получения ЭСК, исследования в основном проводят с уже созданными и поддерживаемыми искусственно клеточными линиями: ранее была продемонстрирована способность ЭСК сохранять плюрипотентность и пролиферативный потенциал при длительном культивировании [10]. В то же время длительное выращивание в культуре ЭСК человека приводит к накоплению хромосомных aberrаций [11], которые негативно сказываются на качестве клеточных линий и повышают вероятность развития злокачественных опухолей (тератокарцином) после их пересадки в организм реципиента [12, 13]. Анализ мутаций, возникающих в ЭСК при продолжительном культивировании, продемонстрировал их общую нацеленность на снижение чувствительности к факторам роста и повышение пролиферативной активности [14], что способствует онкогенезу.

Эмбриональные стволовые клетки, полученные в результате пункции бластомера

Наряду с бластоцистами альтернативным источником ЭСК могут выступать единичные бластомеры, изъятые у четырёхклеточных зародышей [15], что, по мнению некоторых авторов [16], частично решает биоэтические проблемы, связанные с разрушением предимплантационного эмбриона. Но у ряда полученных таким образом стволовых линий были выявлены потенциально онкогенные изменения в геноме, что может быть связано именно с их происхождением из раннего бластомера [13]. Дело в том, что на стадии четырёхклеточного зародыша бластомеры обладают свойством **тотипотентности**, точнее, могут давать начало не только всем типам клеток зрелого организма, но и экстраэмбриональным тканям; клетки эмбриобласта бластоцисты **плюрипотентны**, т.е. имеют более ограниченный потенциал к дифференцировке, который ограничивается клеточными линиями собственно эмбриона.

Эмбриональные стволовые клетки, полученные в результате клонирования

Несмотря на возможность трансплантации ЭСК от неродственного донора, актуальной задачей современной

науки является получение клеточных линий с полным соответствием пациенту по антигенным характеристикам. Создание аутологичных ЭСК возможно в случае клонирования, что, помимо моральных и законодательных ограничений, дополнительно сопряжено со значительными техническими и финансовыми затратами. Тем не менее в 2013 г. путём модификации протоколов по переносу ядра соматической клетки (somatic cell nuclear transfer — SCNT) в донорскую яйцеклетку коллектив учёных во главе с М. Tachibana [17] добился получения человеческих клеточных линий ЭСК. В ходе эксперимента проводилось слияние фетального фибробласта и яйцеклетки донора (после предварительного удаления её собственного генетического материала) при помощи гемагглютинирующего вируса Японии. 52 из 60 полученных зигот демонстрировали признаки дробления, 32 из них достигали стадии восьмиклеточного зародыша, лишь 7 развивались далее в морулы, и только 6 образовывали бластоцисты, из которых так и не удалось добиться получения ЭСК. Улучшить результаты удалось путём предварительного инкубирования яйцеклетки с кофеином, подобная модификация повысила вероятность образования бластоцисты до 23,5%; более того, 4 из 8 бластоцист при культивации образовывали ЭСК. Авторы подчеркивают, что полученные таким образом клетки содержат митохондриальные гены яйцеклетки донора, что может быть использовано при лечении пациентов с митохондриальной патологией. В 2014 г. подобные результаты были получены с использованием соматических клеток зрелого мужского организма (35 и 75 лет), что подтверждает возможность создания ЭСК, генетически идентичных пациенту [18].

Партеногенетические эмбриональные стволовые клетки

В качестве альтернативы клонированию разрабатываются методы создания аутологичных ЭСК человека путём партеногенеза (пЭСК). Такой способ рассматривают как более этический, поскольку он не требует проведения оплодотворения [19], а созданные таким образом бластоцисты не могут развиваться далее сомитного периода [20]. Как известно, ряд генов млекопитающих экспрессируется только на материнских или отцовских хромосомах (явление, известное как импринтинг), что делает возможным развитие жизнеспособного потомства лишь в случае участия в его создании двух разнополых родительских геномов [21]. В то же время официально задокументировано несколько случаев партеногенетических химеризмов у человека [22–24], что свидетельствует о возможном участии партеногенетических клеточных линий в образовании тканей зрелого организма.

Существует несколько методов создания партеногенетических зародышей, ряд из них включает активацию яйцеклетки во время первого или второго мейотического деления [25]; полученные в результате клеточные линии человека совместимы по МНС (major histocompatibility —

главный комплекс гистосовместимости) с донором яйцеклетки, но демонстрируют существенное снижение экспрессии импринтированных отцовских генов [26]. Следует отметить, что в случае блокирования первого мейоза предотвращается расхождение отцовских и материнских хромосом овоцита к дочерним клеткам, что приводит к развитию **гетерозиготных пЭСК**, содержащих разные варианты генов (в том числе МНС) в сестринских хромосомах. В случае же блокирования второго мейоза нарушается расхождение хроматид либо материнской, либо отцовской хромосомы каждой пары, в результате в большинстве случаев образуются **гомозиготные пЭСК**, точнее, содержащие практически идентичные варианты аллелей в сестринских хромосомах (за исключением участков кроссинговера) [27]. Малое количество вариантов МНС генов повышает вероятность совместимости с донором (в случае аллотрансплантации), но в то же время делает гомозиготные пЭСК мишенью натуральных киллеров в организме реципиента (феномен гибридной устойчивости) [28]. Несмотря на преимущества пЭСК, полученных в ходе блокирования первого мейоза, эффективность их получения в исследованиях на животных достоверно ниже по сравнению с блокированием второго мейотического деления [27].

Поскольку партеногенез подразумевает развитие организма из неоплодотворённой яйцеклетки, можно предположить, что получать аутологичные клетки подобным образом можно лишь для пациентов женского пола репродуктивного периода. Но в экспериментах на мышах была успешно продемонстрирована возможность использования мужской версии партеногенеза для получения СК. Для этого в энуклеированный овоцит второго порядка переносили ядро одного вторичного сперматоцита / двух сперматид / двух сперматозоидов [29]. В зависимости от типа половой клетки (мужская или женская), использованной для создания зародыша, пЭСК разделяют на **гиногенетические и андрогенетические**.

Партеногенез также используют для создания **эмбриональных гаплоидных СК** путём активации овоцита II порядка либо инъекции одного сперматозоида в энуклеированный овоцит [30]. В 2016 г. была получена человеческая линия гиногенетических гаплоидных СК, которая демонстрировала основные признаки плюрипотентности, включая образование тератом и дифференцировку в производные всех трёх зародышевых листков [31]. Как гиногенетические, так и андрогенетические гаплоидные СК при культивировании спонтанно подвергаются диплоидизации, что позволяет получить гомозиготные диплоидные СК [30]. Благодаря наличию лишь половины генетического набора соматической клетки в гаплоидных СК проще моделируются ситуации с потерей функции отдельных генов, что и является одним из направлений их применения [32]. Кроме того, гаплоидные СК также используют (пока в экспериментальных работах) для искусственного оплодотворения;

Таблица 2. Сравнительная характеристика стволовых клеток человека**Table 2.** Comparative characteristics of human stem cells

Вид СК	Преимущества	Недостатки
ЭСК	– широкий спектр дифференцировки (плюрипотентность); – высокий пролиферативный потенциал	– этический аспект, связанный с разрушением зародыша человека на стадии бластоцисты; – невозможность создания аутологичных клеток (предполагает клонирование человека); – высокий риск развития тератом, а в случае длительного культивирования ЭСК – тератокарцином; – сложность получения (необходимость проведения микроманипуляций); – относительно высокий уровень материальных затрат
Фетальные перинатальные экстраэмбриональные (на примере гемопоэтических клеток пуповинной крови)	– отсутствие этических проблем при получении; – неинвазивная процедура получения; – относительно зрелых СК более широкий спектр дифференцировки и пролиферативный потенциал; – низкая вероятность соматических мутаций; – отсутствие риска развития тератом; – более низкая иммуногенность и вероятность отторжения по сравнению со зрелыми СК	– возможность использования аутологичных клеток только в случае наличия у пациента криоконсервированного образца в банке; – небольшое количество СК в пересчёте на 1 образец по сравнению с СК периферической крови и костного мозга; – более высокая стоимость по сравнению с СК периферической крови и костного мозга (при использовании аллогенных образцов); – необходимость финансового содержания образца в криобанке на протяжении всей жизни
Зрелые (соматические) СК	– возможность получения аутологичных клеток; – лёгкость выделения (в том числе без инвазивных процедур); – возможность выделения в большом количестве (гемопоэтические СК, СК жировой ткани); – относительно ЭСК и ИПСК меньший риск развития опухолей	– содержат соматические мутации, количество которых увеличивается с возрастом; – относительно узкий тканеспецифичный спектр дифференцировки (мультипотентность); – относительно невысокий пролиферативный потенциал
ИПСК	– широкий спектр дифференцировки (плюрипотентность); – более простой способ получения относительно ЭСК; – возможность получения аутологичных клеток	– высокий риск развития опухолей (в том числе злокачественных); – геномные повреждения, связанные с технологией индукции плюрипотентности, а также с длительной культивацией <i>in vitro</i>; – низкая эффективность репрограммирования (меньше 1,5%); – эпигенетическая память

Примечание. СК – стволовые клетки; ЭСК – эмбриональные стволовые клетки; ИПСК – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

процедура переноса гаплоидной андрогенетической СК в овоцит II получила название **репродуктивного полуклонирования** (semi-cloning) [33]. На животных успешно продемонстрирована возможность получения жизнеспособного потомства при помощи этой технологии [34]. Более того, модификация импринтированных генов в гаплоидной гиногенетической СК перед её инъекцией в яйцеклетку позволяет получить жизнеспособное потомство от двух особей женского пола, что было показано китайскими учёными в экспериментах на мышах [35, 36]. Целесообразность таких работ учёные объясняют возможностью изучения явления импринтинга, в частности относительного вклада каждого из импринтированных генов в процесс эмбрионального развития организма. Если перспективы применения гиногенетических

гаплоидных СК довольно сомнительны, то генетическая модификация андрогенетических гаплоидных клеток для получения трансгенных животных в экспериментальных целях путём полуклонирования является довольно перспективным направлением [37, 38].

Фетальные стволовые клетки

До момента рождения СК могут быть выделены из организма в результате ряда инвазивных процедур (забор материала для генетического анализа, аборт, в том числе при внематочной беременности, выкидыши), большая часть из которых ведёт к прерыванию беременности, что ограничивает возможности широкого использования фетальных СК в практической медицине [39]. Сразу же после момента рождения появляется возможность

выделить большое количество СК из экстраэмбриональных органов и тканей, которые утрачивают своё значение и до недавнего времени рассматривались как биологические отходы. Именно доступность этих СК является основанием для их обособления в отдельную подгруппу экстраэмбриональных перинатальных СК, которая является одной из наиболее перспективных с точки зрения практического применения.

Главными преимуществами этой подгруппы СК являются:

- отсутствие этических проблем;
- неинвазивная процедура получения;
- низкое содержание соматических мутаций;
- отсутствие риска развития тератом;
- низкая иммуногенность за счёт низкой экспрессии

HLA (Human Leukocyte Antigens — человеческий лейкоцитарный антиген) I класса;

- иммуномодулирующее действие за счёт толерогенного эффекта HLA-G, HLA-E [40].

Основные недостатки экстраэмбриональных перинатальных СК в основном связаны с финансовыми вопросами (необходимость оплаты либо содержания образца в криобанке, либо покупки образца в случае отсутствия аутологичного), а также с относительно низким абсолютным количеством СК в одном образце.

В составе экстраэмбриональных перинатальных СК различают:

- гемопоэтические;
- мезенхимальные (МСтрК);
- эпителиальные;
- децидуальные;
- хорионические.

Гемопоэтические стволовые клетки

Основным источником гемопоэтических СК является пуповинная кровь, хотя они также могут быть выделены из плаценты. Как уже было сказано, именно СК пуповинной крови входят в число немногих клеточных продуктов, одобренных официальными органами разных государств для применения в медицине. Их основное преимущество состоит в низкой иммуногенности (необходимо совпадение всего по 2–5 локусам HLA, по сравнению с 10 локусами для зрелых СК) и, следовательно, в более низкой вероятности отторжения [41]. В то же время существенным недостатком пуповинной крови является низкий объём одного образца (в среднем около 100 мл), что не компенсируется относительно более высокой концентрацией СК и их пролиферативным потенциалом и в случае со взрослыми пациентами требует двойного переливания [42]. Использование нескольких образцов пуповинной крови существенно увеличивает стоимость процедуры для пациента, в то время как усовершенствование методов забора СК из периферической крови делает последние наиболее выгодными с финансовой точки зрения [42].

Мезенхимальные стромальные клетки

МСтрК могут быть получены из Вартонова геля, выстилки и крови пуповины, амниона и плаценты. Несмотря на морфологическое сходство, свойства этих клеток существенно варьируют в зависимости от места локализации. В 2004 г. H.S. Wang и соавт. продемонстрировали мультипотентность МСтрК Вартонова студня путём их дифференцировки в кардиомиоциты, адипоциты и остециты [43]. Из 1 см² пуповины можно получить относительно много ($1\text{--}5 \times 10^4$) МСтрК, но их популяция характеризуется морфологической разнородностью [44]. Распределение клеток в пределах Вартонова геля пуповины неравномерно: в околососудистом регионе клетки расположены компактно, в то время как под амниотическим эпителием более свободно. Более того, клетки на периферии характеризуются более длинными и многочисленными цитоплазматическими отростками по сравнению с периваскулярной зоной. Подобные отличия можно объяснить разными источниками происхождения этих групп клеток (соматоплевра амниотической мезенхимы, спланхноплевра желточного мешка и мезенхима аллантоиса) [45]. По этой причине при исследовании свойств МСтрК особенно важно указывать, из какой конкретно зоны Вартонова геля они были получены, что в некоторых исследованиях игнорируется.

Сравнительный анализ трёх анатомических регионов (пуповина, граница пуповины и плаценты, плацента), показал, что именно участок на границе между пуповиной и плацентой содержит наибольшее количество МСтрК, которые к тому же обладают наибольшим потенциалом к пролиферации, самообновлению и дифференцировке [46].

По сравнению с МСтрК других перинатальных источников (плаценты, пуповинной крови, Вартонова геля) клетки выстилки пуповины обладают такими преимуществами, как самая высокая пролиферативная активность и показатели миграции, а также более длительная выживаемость при пересадке иммунодефицитным мышам [47]. Сравнительный анализ МСтрК выстилки пуповины и костного мозга доноров после 65 лет показал, что клетки выстилки характеризуются существенно более низкой экспрессией HLA I класса, более высокой продукцией толерогенных факторов TGF- β (трансформирующий фактор роста бета) и интерлейкина 10, а также более активной пролиферацией [40].

Хорионические мезенхимальные стромальные клетки

Хорионические МСтрК демонстрируют ряд особенностей, по сравнению с МСтрК другой локализации. Прежде всего их отличает большая продолжительность жизни и отсроченные признаки старения, что обеспечивается за счёт поддержания длины теломер [48]. Кроме того, МСтрК плаценты обладают ангиогенным потенциалом, что активно изучается в экспериментальных моделях по ишемии конечностей [49], миокарда [50]

и переломах костей [51]. Также ангиогенный потенциал демонстрируют экзосомы, продуцируемые МСтрК *in vitro*, что подтверждается образованием эндотелиальных трубок и усилением экспрессии генов, связанных с ангиогенезом, *in vitro* [52].

Децидуальные мезенхимальные стромальные клетки

При исследовании свойств децидуальных МСтрК плаценты была замечена их способность мигрировать по направлению к опухоли и замедлять её рост [53]. Это послужило основой для разработки новых средств таргетной доставки противоопухолевых препаратов [54].

Эпителиальные стромальные клетки

Эпителиальные СК в основном выделяют из амниона и эпителия выстилки пуповины, которые являются производными эпибласта. Важно отметить, что именно эпибласт служит источником всех трёх зародышевых листков в процессе гаструляции, что предполагает достаточно широкий спектр возможностей дифференцировки амниотического эпителия и его производных. Y. Zhou и соавт. продемонстрировали способность эпителиальных СК выстилки пуповины угнетать Т-клеточный иммунный ответ в реакции смешанной культуры лимфоцитов, а также указали на значение растворимой формы HLA-G молекулы в этом процессе [55]. Что особенно важно с практической точки зрения — было установлено, что отторжение человеческих кератиноцитов при пересадке иммунокомпетентным мышам задерживалось в случае их совместной трансплантации с эпителиальными СК выстилки пуповины [55]. Иммуносупрессивные свойства эпителиальных СК выстилки пуповины обусловлены в том числе отсутствием HLA-DR и костимулирующих молекул CD40, CD80 и CD86 [47].

Амниотический эпителий, как и эпителий выстилки пуповины, обладает иммунологической привилегированностью за счёт экспрессии Fas, FasL, а также HLA-G [56]. В 2005 г. T. Miki и соавт. продемонстрировали экспрессию маркеров СК в амниотическом эпителии человека, изолированном из плаценты после естественных родов [57]. Также авторы отметили отсутствие экспрессии теломеразы в этих клетках и, что особенно важно, опухолевых свойств при трансплантации лабораторным животным.

Наиболее эффективные методы выделения амниотических эпителиальных клеток позволяют получить до $1,9 \times 10^8$ клеток на один образец плаценты, что довольно немало по сравнению с другими экстраэмбриональными фетальными тканями [58]. Но выделенные клетки достаточно гетерогенны по своим свойствам и обладают разной степенью стволовости, что требует дальнейшего усовершенствования способов очистки СК из этого источника [55, 59].

Из 1 см^2 эпителия выстилки пуповины можно получить по 2×10^7 эпителиальных СК и МСтрК, в то время как средняя площадь одного образца составляет около 330 см^2 [60]. Такая высокая урожайность в сочетании

с перечисленными преимуществами делает выстилку пуповины наиболее перспективной среди остальных перинатальных экстраэмбриональных источников СК.

Зрелые (тканевые, соматические) стволовые клетки

В составе органов и тканей в постнатальном периоде онтогенеза сохраняется определённая доля недифференцированных клеток, которые отвечают за рост и физиологическую регенерацию на протяжении жизни. Их количество и свойства зависят от возраста и тканевой принадлежности, а общими характеристиками являются способность к самовоспроизведению, поддержанию своего количества на постоянном уровне и дифференцировке в различные типы клеток [61]. В отличие от индуцированных плюрипотентных или эмбриональных, соматические СК тканеспецифичны и, следовательно, имеют более узкий спектр дифференцировки, ограниченный их тканевой принадлежностью (мультипотентность). Кроме того, популяции СК определённой специфичности неоднородны и состоят из клеток с перекрывающимися возможностями, но с разной степенью предрасположенности к дифференцировке в те или иные типы зрелых клеток [62]. Так, например, хорошо изученные гемопоэтические СК отличаются по своей склонности к дифференцировке в направлении миелоидного или лимфоидного ростка, а также по ряду других параметров, включая интенсивность деления [63]. Ряд учёных во главе с M. Ratajczak считают, что СК зрелых тканей также отличаются по степени дифференцировки, и на вершине их иерархии находятся клетки, близкие по свойствам к ЭСК, за что получили название **«очень маленькие СК, подобные эмбриональным»** (very small embryonic like stem cells — VSELSC) [64]. Общность свойств с ЭСК делает VSELSC очень перспективными для клеточной терапии, хотя их существование вызывает дискуссии в научных кругах, так как не все коллективы учёных смогли получить VSELSC и подтвердить их ключевые свойства [65]. Авторы концепции VSELSC объясняют это нарушениями протокола очистки и выделения, а также невысоким содержанием VSELSC в зрелых тканях (~0,01% мононуклеарных клеток красного костного мозга) [66].

Свойства зрелых СК зависят от микроокружения — стромальных поддерживающих клеток, компонентов межклеточного матрикса, кровеносных сосудов и нервных волокон. Факторы, выделяемые этим микроокружением, а также состояние адгезии к матриксу и окружающим клеткам в совокупности получили название **«ниша СК»** [67]. Важно уточнить, что ниша рассматривается не как физическое место локализации СК, а именно как совокупность факторов, которые предопределяют поддержание СК в спящем состоянии, индуцируют их к делению или дальнейшей дифференцировке. Интересно, что даже старение СК происходит под воздействием

ниши, так как стареющие СК под влиянием молодого микроокружения активируются, в то время как молодые СК, помещённые в ниши стареющих тканей, соответственно снижают пролиферативный потенциал [68].

Большая часть СК в зрелых тканях пребывает в состоянии покоя (G0), которое характеризуется обратимым арестом клеточного цикла и поддержанием малодифференцированного состояния [69]. Под воздействием повреждающих сигналов СК обратимо переходят в состояние бдительного покоя (GAlert), что обозначает их более высокую готовность ко вступлению в клеточный цикл и, следовательно, более высокий регенеративный потенциал по сравнению с G0 [70].

Для поддержания численности СК существует две стратегии: симметричного и асимметричного деления. При **асимметричном делении СК** одна из дочерних клеток сохраняет свойства материнской, а вторая, транзиторная амплифицирующаяся клетка (transit amplifying cell), активно делится и в последующем дифференцируется в зрелые элементы тканей. При **симметричном делении СК** даёт начало либо двум СК, либо двум дифференцированным клеткам. Симметричное деление преобладает во время эмбрионального развития, а также в процессах регенерации после болезней и повреждений, поскольку позволяет увеличить количество СК [71]. Также переход к симметричному делению наблюдается в опухолях низкой степени дифференцировки на поздних стадиях развития [72], что свидетельствует о значимости типа клеточного деления для процесса малигнизации.

В работах, посвящённых СК, также встречается термин «**клетки, удерживающие метку**» (label retaining cells — LRC), который связан с экспериментами по импульсному введению меченых нуклеотидов для выявления митотических делений. Некоторые клетки удерживают метку на протяжении достаточно длительного периода за счёт либо прекращения делений, либо избирательного сохранения материнской копии ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) после каждой репликации (гипотеза бессмертных нитей — immortal strands hypothesis). Работы по изучению кишечного эпителия установили, что клетки, удерживающие метку, коммитированы в направлении клеток Панета и секреторных (бокаловидных, энтероэндокринных, щёточных) клеток, но сохраняют способность при особых обстоятельствах возвращать свойства СК и участвовать в регенерации [73].

Описать все разновидности СК зрелого организма человека в одной обзорной статье не представляется возможным, поэтому в данной работе мы решили сосредоточить внимание на тех разновидностях, которые могут быть выделены в большом количестве (гемопозитические, МСтрК), с минимальной инвазивностью и травматичностью (СК эпидермиса) или без необходимости инвазии (СК менструальной крови, дентальные СК).

Гемопозитические стволовые клетки

С точки зрения частоты использования в практической медицине на первом месте находятся гемопозитические СК костного мозга, которые были впервые описаны более 110 лет назад в работе А. Maximow [74] как единые предшественники всех форменных элементов крови. Сходные по внешним признакам с малыми лимфоцитами, гемопозитические СК способны к самообновлению и поддержанию всех ростков кроветворения, поэтому большая часть работ с их использованием направлена на восстановление кроветворения у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. В то же время небольшая доля исследований посвящена изучению возможностей трансдифференцировки гемопозитических СК в производные других эмбриональных листков, хотя в этом направлении пока мало успехов [75].

Основным источником гемопозитических СК человека является костный мозг, но в связи с травматичностью процедуры забора в последнее время всё чаще прибегают к альтернативным источникам — пуповинной (в основном для пациентов детского возраста, поскольку объём порции небольшой — около 100 мл) и периферической крови (наиболее перспективный источник гемопозитических СК для пациентов зрелого возраста) [76]. Получение большого количества гемопозитических СК из периферической крови стало возможным за счёт применения мобилизирующих агентов, таких как колониестимулирующий фактор гранулоцитов, за 4–5 дней до процедуры забора [42]; это создаёт успешную альтернативу забору 0,5–1,5 литра костного мозга из подвздошного гребня тазовой кости под общим наркозом.

Мезенхимальные стволовые клетки

В 1991 г. А. Caplan ввел понятие «мезенхимальная стволовая клетка» (МСК) для обозначения мультипотентных СК костного мозга негемопозитического ряда [77]. С того времени этот термин наряду с другим — «мультипотентные МСтрК» — закрепился в литературе для обозначения клеток, адгезирующих к поверхности пластика при культивации, способных к пролиферации и дифференцировке *in vitro* в хондроциты, остециты и адипоциты, а также экспрессирующих ряд молекул — CD105, CD73, CD90 [78]. Клетки с подобными свойствами были выделены практически из всех тканей в организме человека. На данный момент в базе клинических испытаний США зарегистрировано 763 исследования с использованием МСК (табл. 1) [79]. Несмотря на широкое распространение термина «МСК», в последнее время он подвергается критике, в том числе со стороны автора, который его ввёл [80]. Дело в том, что МСК даже в пределах одной ткани демонстрируют существенные различия в транскрипционных профилях, потенциалах дифференцировки, степени зрелости, источниках эмбрионального развития [81–83], что свидетельствует о выраженной гетерогенности этой подгруппы СК, несмотря на объединяющие

критерии. Кроме того, ещё в 2008 г. M. Crisan и соавт. продемонстрировали убедительные доказательства того, что по составу поверхностных молекул, а также по спектру дифференцировки МСК идентичны перицитам, что позволяет в большинстве случаев отождествлять эти две группы клеток [84]. С результатами этого исследования согласен и A. Caplan, который в 2017 г. предложил отказаться от термина «МСК» и заменить его на понятие «лечебная сигнальная клетка» (англоязычная аббревиатура остается той же — MSC — medicinal signaling cell), тем самым подчеркивая, что терапевтический эффект МСК обусловлен факторами, которые они выделяют, а не их непосредственным встраиванием в повреждённые ткани [80]. Другие авторы предлагают в качестве альтернативы термин «МСтрК» [78], но, по мнению A. Caplan, не все МСК имеют отношение к стромальному компоненту тканей, из которых они выделены [80].

Таким образом, на данный момент в научной литературе нет единого мнения по поводу термина «мезенхимальная стволовая/стромальная клетка» [83]. Дальнейшее изучение гетерогенитета МСК необходимо для разработки более точных критериев классификации и чёткой номенклатуры, что очень важно в сопоставлении данных разных исследовательских групп. Очевидно, что в составе соединительных тканей зрелого организма должны присутствовать СК, но в намного меньшем количестве по сравнению с гемопоэтическими СК в костном мозге, или СК в составе часто обновляющихся эпителиев. Учитывая наличие в составе МСК клеток разной степени дифференцировки, употребление термина в значении МСтрК может рассматриваться как более корректный вариант. Также целесообразно указывать орган и ткань, из которых получены МСК.

Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани

Оптимальной с точки зрения соотношения эффективности/инвазивности процедуры получения МСК является жировая ткань: в пересчёте на 1 г этой ткани можно получить приблизительно такое же количество МСК, как из костного мозга [85]. В то же время абсолютный объём жировой ткани, полученной в результате липосакции, может быть намного больше предельно допустимого объёма забора костного мозга при несравненно меньшем ущербе для здоровья пациента. Кроме того, МСК жировой ткани обладают дополнительным преимуществом в виде более высокого пролиферативного потенциала, иммуномодулирующего эффекта и способности к секреции ряда факторов (фактор роста фибробластов, интерферон- γ , инсулиноподобный фактор роста-1) [86].

В последнее время актуальным стал вопрос изучения гетерогенности каждой отдельной популяции СК, в том числе жировой ткани. Известно, что в процессе эмбрионального развития клеточные линии различных жировых депо мигрируют из разных дермомиотомов. Кроме того, в составе одного депо могут встречаться потомки разных

клеточных линий, что может накладывать отпечаток на свойства МСК жировой ткани, выделенной из разных участков тела [87]. Кроме того, гетерогенность МСК жировой ткани определяется рядом дополнительных факторов, включая возраст донора, пол, индекс массы тела и клиническое состояние; способ забора (резекция, или липосакция); тип среды для культивирования [88]. Дальнейшие исследования необходимы для разработки оптимальных методов очистки МСК жировой ткани и стандартизации протоколов их культивирования.

Учитывая низкую травматичность процедуры липосакции, а также возможность одномоментного получения большого количества аутологичных МСК, жировая ткань является одним из наиболее перспективных источников СК в регенеративной медицине.

Мезенхимальные стволовые клетки менструальной крови

Из трёх видов эндометриальных СК (клетки-предшественники эпителия, МСК и клетки-предшественники эндотелия / клетки побочных популяций) в составе менструальных выделений выделяются лишь МСК, которые имеют большое количество вариантов названий в литературе, наиболее распространённое — МСК менструальной крови. Существенным преимуществом этой группы клеток является возможность их получения без инвазивных процедур; кроме того, они обладают достаточным пролиферативным потенциалом, а также иммуномодулирующим действием и активно исследуются в процессах заживления ран и заболеваний эндометрия [89, 90]. Некоторые компании уже предлагают услуги криоконсервации МСК менструальной крови наряду с СК пуповины, хотя этот вид зрелых МСК уступает многим другим по своим свойствам, что ставит под вопрос целесообразность их хранения в банках.

Дентальные мезенхимальные стволовые клетки

МСК можно получить из удалённых по разным причинам зубов. Различают несколько видов дентальных МСК, которые сходны по морфологии, но отличаются по своим свойствам и локализации: СК апикального сосочка, пульпы зуба, периодонтальной связки, выпавших молочных зубов, дентального мешочка. **СК пульпы зуба** неоднородны, среди них различают эктомезенхимальные — предшественники одонтобластов и МСК — предшественники соединительной ткани [91, 92]. Особый интерес к эктомезенхимальным СК пульпы обусловлен их происхождением из нервного гребня, что позволяет использовать их не только для получения тканей зуба (дентина, пульпы, цемента), хондроцитов, адипоцитов, гладкомышечных клеток, но также для создания нейронов [93]. **СК пульпы молочных зубов** обладают сходными свойствами [94], но, по сравнению с аналогичными клетками зрелого зуба, они характеризуются большей пролиферативной активностью, а также более выраженным нейрогенным потенциалом [82].

В процессе созревания дентина корня зуба источником одонтобластов выступают **МСК апикального сосочка**, который может быть легко отделён от зуба при помощи пинцета (у пациентов до ~24 лет). В экспериментах с модулированием генной экспрессии SFRP2 и SOX2 в культуре СК апикального сосочка было продемонстрировано усиление нейрогенного потенциала дифференцировки, что проявлялось в приобретении морфологического сходства с нейронами и экспрессии соответствующих маркеров (нестин, β III-тубулин) [95].

Отслеживание судьбы клеток нервного гребня при помощи генетических меток показало наличие его производных не только в зубном сосочке, из которого развиваются клетки пульпы, но и в составе зубного мешочка, который выступает источником цемента и периодонтальной связки [96]. В подтверждение этого в 2018 г. учёным удалось добиться дифференцировки **СК периодонтальной связки** (выделенных с поверхности корня удалённого зуба) в направлении нейтральных предшественников под действием изотиоцианата, выделенного из семян моринги [97]. До момента прорезывания зуба в составе зубного фолликула продолжают сохраняться СК, которые могут быть получены при удалении зубных почек у детей по ортодонтическим соображениям. Сравнительный анализ морфологии, частоты пролиферации, потенциала дифференцировки **СК дентального фолликула**, пульпы и апикального сосочка, изъятых у одного донора, показал сходство по большинству параметров [98].

Таким образом, преимущество дентальных СК, по сравнению с другими видами зрелых СК, состоит в наличии у них выраженного нейрогенного потенциала дифференцировки, что делает их перспективным источником в лечении заболеваний нервной системы, включая нейродегенеративные [82].

Стволовые клетки эпителиальных тканей

Эпителиальные ткани обладают высокой способностью к регенерации, которая обеспечивается за счёт наличия в составе эпителиального пласта СК. В 2015 г. были опубликованы результаты ретроспективного анализа, которые продемонстрировали высокий уровень коррелятивной связи (0,81) между риском развития раковых опухолей и количеством клеточных делений, необходимых для поддержания нормального гомеостаза в различных тканях организма человека [99], что ещё раз подтверждает связь между СК и злокачественными процессами. Интересно, что, несмотря на большое количество СК в составе эпителиальных тканей, их не объединяют в общее понятие эпителиальной СК, подобно МСК, а при упоминании всегда уточняют источник происхождения, например, эпителиальная СК тонкого кишечника. Одним из наиболее перспективных источников эпителиальных СК для регенеративной медицины является эпидермис кожи ввиду высокой способности к регенерации, большой площади поверхности и лёгкой доступности для процедур изъятия СК, а также широкого потенциала дифференцировки.

Эпидермальные стволовые клетки

СК эпидермиса находятся в базальном слое межфолликулярного эпидермиса и волосяном фолликуле между местами прикрепления мышцы, поднимающей волос, и впадением протока сальной железы. Популяция этих клеток достаточно пластична, но разнородна по степени зрелости, пролиферативной активности и склонности к дифференцировке в направлении тех или иных клеток кожи [100]. В результате исследований на мышах было выявлено разделение эпидермиса на компартменты (нижняя часть пилосеборейного комплекса, воронка, сальная железа и межфолликулярный эпидермис), каждый из которых поддерживается за счёт отдельного вида СК [83]. В экспериментах *in vitro* была продемонстрирована способность межфолликулярных кератиноцитов пожилых людей дифференцироваться в СК нервного гребня под воздействием FGF2 и IGF1. Также учёным удалось добиться дальнейшей дифференцировки этих клеток в нейроны, клетки Шванна, меланоциты и гладкомышечные клетки [101]. Таким образом, было показано, что эпидермис является легко доступным перспективным аутологичным источником СК нервного гребня [102], которые могут быть использованы для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Многочисленные исследования посвящены изучению роли эпидермальных СК в процессах заживления раневых поверхностей, регенерации волосяных фолликулов, восстановления нормальной пигментации [103]. Также разрабатываются способы трансдифференцировки эпидермальных СК в другие виды эпителиев, в частности уретры, роговицы [12].

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки

В 2007 г. К. Takahashi и соавт. [104] опубликовали результаты экспериментов по генерации плюрипотентных клеток из зрелых фибробластов кожи человека при помощи эктопической экспрессии 4 факторов: Oct3/4, Sox2, Klf4 и с-Мус. В том же году коллектив учёных во главе с J. Yu [105] получил сходные результаты с использованием несколько модифицированного набора факторов: Oct4, Sox2, Nanog и LIN28. Преимуществом такой комбинации было отсутствие потенциального онкогена с-Мус. Полученные таким образом клетки по строению, активности пролиферации, генной экспрессии и теломеразной активности были сходны с ЭСК человека. Дополнительным подтверждением плюрипотентности была дифференцировка полученных клеток в производные трёх зародышевых листков и образование ими тератом. Разработанная методика преобразования зрелых клеток в СК позволила обойти многочисленные этические проблемы, связанные с созданием и разрушением человеческих зародышей, что во многом приблизило возможность использования ИПСК в клинической практике. В то же время ИПСК

нельзя полностью отождествлять с ЭСК, так как в процессе перепрограммирования клетки сохраняют эпигенетическую память. По той же причине ИПСК отличаются друг от друга в зависимости от тканевой принадлежности исходной репрограммируемой клетки. Подобные отличия ИПСК от ЭСК связаны с тем, что при оплодотворении в течение первых 4 ч происходит активное тотальное деметилирование ДНК [106], в то время как при репрограммировании соматических клеток деметилирование происходит пассивно, выборочно и достаточно медленно [107]. Также стоит отметить, что, несмотря на значительный прогресс в методологии получения ИПСК, эффективность процедур репрограммирования остаётся довольно низкой (менее 1,5%) [108, 109]. Это ограничивает возможности использования ИПСК в практической медицине. Но наиболее существенными недостатками ИПСК, на которых следует остановиться подробнее, являются генетические aberrации и высокий риск развития опухолей, в том числе злокачественных.

Одним из существенных недостатков ИПСК, по сравнению с ЭСК, является их повышенная способность к образованию злокачественных опухолей при инъекции экспериментальным животным [14]. Сходство ИПСК и опухолевых клеток даже натолкнуло учёных на мысль о создании противоопухолевой вакцины на основе пациент-специфичных ИПСК. В экспериментах на животных были получены многообещающие результаты, на основании которых разрабатываются новые направления иммунотерапии онкозаболеваний [110].

Основными факторами, способствующими туморогенности ИПСК, являются:

- наличие в соматических клетках мутаций, накопленных на протяжении жизни;
- интеграция в геном ретровирусных конструкций, несущих факторы репрограммирования;
- длительная культивация, необходимая для репрограммирования.

Анализ генома ИПСК человека, полученных из фибробластов крайней плоти новорождённых, выявил, что 7% мутаций возникли в ходе *in vitro* культивирования, 19% предсуществовали в исходных фибробластах, а 74% были обусловлены самим процессом репрограммирования [111]. В этом случае необходимо учитывать, что исходные клетки были взяты у новорождённого, так как на протяжении жизни в соматических клетках происходит постепенное накопление мутаций [112], следовательно, их удельное значение в мутационной нагрузке ИПСК может увеличиваться с возрастом пациента. По этой причине для генерации ИПСК предпочитают использовать как можно более молодые клетки, например, пуповинную кровь [113]. Сравнение ИПСК и ЭСК, сгенерированных из фибробластов одной и той же мыши (что предполагает нормализацию по уровню мутаций до репрограммирования) выявило существенно более высокую мутационную нагрузку в ИПСК по сравнению

с сингенными ЭСК [114], подтверждая ведущую роль процесса индукции плюрипотентности в накоплении мутаций. Также неоднозначным является удельный вклад процесса культивирования в генетических aberrациях ИПСК, так как этот фактор зависит от времени пребывания клеток в культуре [115]. На основании анализа собственных исследований, а также данных литературы U. Ben-David и N. Benvenisty пришли к выводу, что генетические изменения, происходящие в процессе культивирования ИПСК и ЭСК, являются не случайными, а направлены на стимуляцию пролиферации и снижение чувствительности к факторам роста, а также чаще приводят к формированию злокачественных опухолей при инъекции лабораторным животным [14]. Среди прочих aberrаций авторы обращают внимание на дупликацию 12-й хромосомы, содержащей большое количество генов — регуляторов клеточного цикла, что может способствовать малигнизации клеточной культуры ИПСК [115].

Процесс репрограммирования является основным источником генетических aberrаций ИПСК главным образом потому, что сопровождается активацией и сверхэкспрессией онкогенов (прежде всего *c-Myc*) и (или) факторов, ассоциированных с некоторыми видами злокачественных опухолей (например, *Oct4*, *Sox2*, *Klf4*) [116], а также угнетением онкосупрессоров (например, *p53*) [117]. Кроме того, повреждающее действие на геном также оказывают вирусные конструкции, используемые для доставки факторов репрограммирования.

Модификации методов получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток

Как уже было сказано, каждая группа СК не является однородной, и её можно разделить на подгруппы по разным критериям. Для ИПСК такими критериями являются тип клетки, использованной для репрограммирования, и метод репрограммирования. На описании последних стоит остановиться подробнее.

Первые эксперименты по генерации ИПСК, ставшие уже классическими, сопровождались использованием ретровирусных конструкций с четырьмя факторами транскрипции [104, 105]. Дальнейшие модификации методов индукции плюрипотентности были нацелены на снижение количества используемых факторов [118] вплоть до одного — *Oct4* [119], а также диверсификацию способа их доставки [120]. Наиболее перспективными являются методы, не сопровождающиеся повреждением ДНК репрограммируемой клетки, например, экстрахромосомные эписомальные плазмиды. Отсутствие в них вирусной оболочки снижает вероятность появления вирусов дикого типа и экзогенной ДНК, а сами векторы могут быть лишены возможности реплицироваться внутри эукариотической клетки и, следовательно, исчезают

в процессе клеточного деления [121]. Недостатком подобных методов является их относительно низкая эффективность по сравнению с вирусными конструкциями.

Помимо ДНК-молекул для репрограммирования, успешно используются микроРНК (рибонуклеиновая кислота), например, miR-302, которая регулирует не только экспрессию факторов плюрипотентности, но и эпигенетический профиль ИПСК [122]. Дополнительным преимуществом данного метода является снижение туморогенности полученных клеток за счёт блокирования перехода G1-S (благодаря супрессии miR-302 двух регуляторов клеточного цикла E-CDK2, D-CDK4/6) без стимуляции апоптоза.

Одним из наиболее перспективных направлений в генерации ИПСК является обработка соматических клеток молекулами протеинов факторов плюрипотентности, оснащённых дополнительными доменами для пенетрации плазмалеммы [123]. В то же время существуют данные о низкой эффективности этих методов в работе со зрелыми соматическими клетками по сравнению с ЭСК [124]. Последовательная интродукция факторов Oct4-Klf4 в начале, затем с-Мус и, наконец, Sox2 позволила решить эту проблему [125].

Таким образом, основные стратегии, направленные на снижение туморогенного потенциала ИПСК, сводятся к оптимизации способа репрограммирования (использование как можно меньшего количества факторов и неинтегрирующихся конструкций), использованию как можно более молодых соматических клеток для репрограммирования, снижению длительности культивации. Поскольку на данный момент всё ещё не удается полностью избежать неконтролируемых генетических aberrаций ИПСК, до момента трансплантации их полностью дифференцируют в необходимый тип клеток и проводят полную элиминацию малодифференцированных элементов [126].

Перспективные направления использования стволовых клеток

Терапевтический эффект СК обусловлен не столько их встраиванием в соответствующие ниши, делением и дифференцировкой, сколько активирующим воздействием на клетки организма реципиента. Это воздействие может быть обусловлено секрецией ряда биологически активных молекул, а также альтернативными средствами межклеточной коммуникации, такими как туннельные нанотрубочки, экстрацеллюлярные везикулы и слияние цитоплазм [127]. Понимание механизмов действия СК привело к появлению новых методов **бесклеточной терапии**, которые призваны добиться основных эффектов СК, используя лишь отдельно выделенные факторы или экстрацеллюлярные везикулы.

Экстрацеллюлярные везикулы представлены экзосомами, микровезикулами и апоптотическими тельцами. **Экзосомы** образуются в результате экзоцитоза микровезикулярных телец, которые, в свою очередь, образуются

путём впячивания внутрь мембраны эндосом. Диаметр экзосом относительно небольшой (40–150 нм), что не позволяет им осуществлять обмен органеллами; в основном они служат транспортной формой для микроРНК и белковых факторов. **Микровезикулы** более крупные по размеру (150–1000 нм в диаметре), образуются путём выпячивания плазмалеммы с последующим отпочкованием; часто служат для переноса крупных органелл. В экспериментах по введению мышам человеческих МСК было выявлено, что сами МСК элиминируются из организма реципиента уже на 14–28-й день после инъекции, в то время как митохондриальная ДНК всё ещё обнаруживается на 28-е сутки [128]. **Апоптотические тельца** являются продуктами апоптоза и содержат фрагменты цитоплазмы разрушенной клетки; их диаметр существенно варьирует (50–2000 нм). Взаимодействие экстрацеллюлярных везикул с клетками организма-хозяина происходит при помощи рецептор-опосредованного эндоцитоза, фагоцитоза или за счёт слияния мембран. Подробная сравнительная характеристика разных видов внеклеточных везикул СК приведена в обзоре L.M.A. Murray и A.D. Krasnodembskaya [127].

Учитывая тот факт, что ни один вид СК не лишён недостатков, искусственная генерация экстрацеллюлярных везикул СК с заданным содержанием и набором рецепторов на поверхности является одним из наиболее перспективных направлений регенеративной медицины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

СК, выделенные на разных этапах онтогенеза из разных тканей и органов человека, а также полученные искусственным путём, существенно образом отличаются друг от друга по ключевым характеристикам. Среди СК сложно выделить разновидность, лишённую каких-либо недостатков и способную вытеснить остальные во всех сферах практического применения, следовательно, все виды СК имеют перспективы для использования в медицине.

Принимая во внимание данные сравнительного анализа положительных и отрицательных качеств отдельных видов СК, можно заключить, что наибольшие риски в отношении практического применения характерны для ЭСК и ИПСК. В случае с ЭСК неизбежной проблемой является необходимость разрушения человеческой бластоцисты, что неприемлемо для многих конфессий и ограничено законодательством ряда стран (запрет на создание эмбрионов ради получения СК). Альтернативные способы создания бластоцист (клонирование, партеногенез) лишь усугубляют основную этическую проблему и требуют дополнительных материальных и технических затрат. Попытка использовать отбракованные зародыши, которые подлежат утилизации, может затормозить прогресс в повышении эффективности ЭКО, так как отбракованный материал может приносить не меньшую прибыль (в качестве источника ЭСК) для частных клиник. Дополнительной

проблемой ЭСК является их свойство образовывать тератомы, что делает невозможным их трансплантацию непосредственно в организм реципиента. Склонность к развитию опухолей и высокий риск генетических aberrаций также является основным препятствием на пути к использованию ИПСК. Минимизация рисков за счёт использования для репрограммирования малодифференцированных клеток, а также методов, не сопровождающихся встраиванием генетических конструкций в геном, не может гарантировать полную безопасность. По этой причине потенциальное применение ИПСК возможно лишь в случае их полной дифференцировки *in vitro* в нужный тип клеток и элиминации всех малодифференцированных элементов до пересадки в организм реципиента.

Наиболее перспективными для использования в регенеративной медицине являются экстраэмбриональные перинатальные и зрелые СК. При этом зрелые клетки имеют меньший потенциал к делению и дифференцировке по сравнению с перинатальными, а также несут ряд соматических мутаций, накопленных с возрастом. В свою очередь, аутологичные экстраэмбриональные перинатальные СК в большинстве случаев недоступны для каждого пациента и даже в случае доступности не всегда содержат достаточное количество клеток, пригодных для использования.

Учитывая наличие недостатков практически у каждого вида СК, всё более перспективными становятся

бесклеточные методы с использованием экстрацеллюлярных везикул СК. Но для внедрения в практику подобных методов необходимо более подробно изучить механизмы действия СК и вовлечённые в них факторы.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Author contribution. All authors confirm the compliance of their authorship, according to international ICMJE criteria (all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Approved Cellular and Gene Therapy Products [Internet]. Food and Drug Administration; 2022 [дата обращения: 13.09.2022]. Доступ по ссылке: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/approved-cellular-and-gene-therapy-products>.
2. Sipp D., Caulfield T., Kaye J., et al. Marketing of unproven stem cell-based interventions: A call to action // *Sci Transl Med*. 2017. Vol. 9, N 397. P. eaag0426. doi: 10.1126/scitranslmed.aag0426
3. Stem cell facts [Internet]. International Society for Stem Cell Research; 2018. 6 p. [дата обращения: 13.09.2022]. Доступ по ссылке: <https://www.closerlookatstemcells.org/wp-content/uploads/2018/10/stem-cell-facts.pdf>.
4. Thomson J.A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S.S., et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts // *Science*. 1998. Vol. 282, N 5391. P. 1145–1147. doi: 10.1126/science.282.5391.1145. Erratum in: *Science*. 1998. Vol. 282, N 5395. P. 1827.
5. Stachelscheid H., Wulf-Goldenberg A., Eckert K., et al. Teratoma formation of human embryonic stem cells in three-dimensional perfusion culture bioreactors // *J Tissue Eng Regen Med*. 2013. Vol. 7, N 9. P. 729–741. doi: 10.1002/term.1467
6. Zhang W.Y., de Almeida P.E., Wu J.C. Teratoma formation: A tool for monitoring pluripotency in stem cell research. In: *StemBook*. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute, 2012.
7. Hentze H., Soong P.L., Wang S.T., et al. Teratoma formation by human embryonic stem cells: evaluation of essential parameters for future safety studies // *Stem Cell Res*. 2009. Vol. 2, N 3. P. 198–210. doi: 10.1016/j.scr.2009.02.002
8. Drukker M., Katz G., Urbach A., et al. Characterization of the expression of MHC proteins in human embryonic stem cells // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002. Vol. 99, N 15. P. 9864–9869. doi: 10.1073/pnas.142298299
9. Liu Y., Li Y., Hwang A., et al. Comparison of three embryo culture methods for derivation of human embryonic stem cells from discarded embryos // *Cell Reprogram*. 2011. Vol. 13, N 3. P. 233–239. doi: 10.1089/cell.2010.0092
10. Amit M., Carpenter M.K., Inokuma M.S., et al. Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture // *Dev Biol*. 2000. Vol. 227, N 2. P. 271–278. doi: 10.1006/dbio.2000.9912
11. Zucchelli M., Ström S., Holm F., et al. In vivo differentiated human embryonic stem cells can acquire chromosomal aberrations more frequently than in vitro during the same period // *Stem Cells Dev*. 2012. Vol. 21, N 18. P. 3363–3371. doi: 10.1089/scd.2012.0066
12. Yang R., Liu F., Wang J., et al. Epidermal stem cells in wound healing and their clinical applications // *Stem Cell Res Ther*. 2019. Vol. 10, N 1. P. 229. doi: 10.1186/s13287-019-1312-z. Erratum in: *Stem Cell Res Ther*. 2020. Vol. 11, N 1. P. 447.
13. Hovatta O., Jaconi M., Tökönen V., et al. A teratocarcinoma-like human embryonic stem cell (hESC) line and four hESC lines reveal potentially oncogenic genomic changes // *PLoS One*. 2010. Vol. 5, N 4. P. e10263. doi: 10.1371/journal.pone.0010263
14. Ben-David U., Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells // *Nat Rev Cancer*. 2011. Vol. 11, N 4. P. 268–277. doi: 10.1038/nrc3034

15. Geens M., Mateizel I., Sermon K., et al. Human embryonic stem cell lines derived from single blastomeres of two 4-cell stage embryos // *Hum Reprod.* 2009. Vol. 24, N 11. P. 2709–2717. doi: 10.1093/humrep/dep262
16. Feki A., Bosman A., Dubuisson J.B., et al. Derivation of the first Swiss human embryonic stem cell line from a single blastomere of an arrested four-cell stage embryo // *Swiss Med Wkly.* 2008. Vol. 138, N 37–38. P. 540–550.
17. Tachibana M., Amato J.P., Sparman M., et al. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer // *Cell.* 2013. Vol. 153, N 6. P. 1228–1238. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.006
18. Chung Y.G., Eum J.H., Lee J.E., et al. Human somatic cell nuclear transfer using adult cells // *Cell Stem Cell.* 2014. Vol. 14, N 6. P. 777–7780. doi: 10.1016/j.stem.2014.03.015
19. Tao H., Chen X., Wei A., et al. Comparison of Teratoma Formation between Embryonic Stem Cells and Parthenogenetic Embryonic Stem Cells by Molecular Imaging // *Stem Cells Int.* 2018. P. 7906531. doi: 10.1155/2018/7906531
20. McGrath J., Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes // *Cell.* 1984. Vol. 37, N 1. P. 179–183. doi: 10.1016/0092-8674(84)90313-1
21. Абатуров А.Е. Влияние экзогенных факторов на геномный импринтинг 3. Влияние вспомогательных репродуктивных технологий // *Здоровье ребенка.* 2016. № 7. С. 162–169. doi: 10.22141/2224-0551.7.75.2016.86744
22. Strain L., Warner J.P., Johnston T., Bonthron D.T. A human parthenogenetic chimaera // *Nat Genet.* 1995. Vol. 11, N 2. P. 164–169. doi: 10.1038/ng1095-164
23. Winberg J., Gustavsson P., Lagerstedt-Robinson K., et al. Chimerism resulting from parthenogenetic activation and dispermic fertilization // *Am J Med Genet A.* 2010. Vol. 152A, N 9. P. 2277–2286. doi: 10.1002/ajmg.a.33594
24. Giltay J.C., Brunt T., Beemer F.A., et al. Polymorphic detection of a parthenogenetic maternal and double paternal contribution to a 46,XX/46,XY hermaphrodite // *Am J Hum Genet.* 1998. Vol. 62, N 4. P. 937–940. doi: 10.1086/301796
25. Humpherys D., Eggen K., Akutsu H., et al. Epigenetic instability in ES cells and cloned mice // *Science.* 2001. Vol. 293, N 5527. P. 95–97. doi: 10.1126/science.1061402
26. Revazova E.S., Turovets N.A., Kochetkova O.D., et al. Patient-specific stem cell lines derived from human parthenogenetic blastocysts // *Cloning Stem Cells.* 2007. Vol. 9, N 3. P. 432–449. doi: 10.1089/clo.2007.0033
27. Kim K., Lerou P., Yabuuchi A., et al. Histocompatible embryonic stem cells by parthenogenesis // *Science.* 2007. Vol. 315, N 5811. P. 482–486. doi: 10.1126/science.1133542
28. Bennett M., Yu Y.Y., Stoneman E., et al. Hybrid resistance: 'negative' and 'positive' signaling of murine natural killer cells // *Semin Immunol.* 1995. Vol. 7, N 2. P. 121–127. doi: 10.1006/smim.1995.0016
29. Zhao Q., Wang J., Zhang Y., et al. Generation of histocompatible androgenetic embryonic stem cells using spermatogenic cells // *Stem Cells.* 2010. Vol. 28, N 2. P. 229–239. doi: 10.1002/stem.283
30. Ding C., Huang S., Qi Q., et al. Derivation of a Homozygous Human Androgenetic Embryonic Stem Cell Line // *Stem Cells Dev.* 2015. Vol. 24, N 19. P. 2307–2316. doi: 10.1089/scd.2015.0031
31. Sagi I., Chia G., Golan-Lev T., et al. Derivation and differentiation of haploid human embryonic stem cells // *Nature.* 2016. Vol. 532, N 7597. P. 107–111. doi: 10.1038/nature17408
32. Liu G., Wang X., Liu Y., et al. Arrayed mutant haploid embryonic stem cell libraries facilitate phenotype-driven genetic screens // *Nucleic Acids Res.* 2017. Vol. 45, N 22. P. e180. doi: 10.1093/nar/gkx857
33. Tesarik J. Reproductive semi-cloning respecting biparental embryo origin: embryos from syngamy between a gamete and a haploidized somatic cell // *Hum Reprod.* 2002. Vol. 17, N 8. P. 1933–1937. doi: 10.1093/humrep/17.8.1933
34. Li W., Shuai L., Wan H., et al. Androgenetic haploid embryonic stem cells produce live transgenic mice // *Nature.* 2012. Vol. 490, N 7420. P. 407–411. doi: 10.1038/nature11435
35. Li Z., Wan H., Feng G., et al. Birth of fertile bimaternal offspring following intracytoplasmic injection of parthenogenetic haploid embryonic stem cells // *Cell Res.* 2016. Vol. 26, N 1. P. 135–138. doi: 10.1038/cr.2015.151
36. Zhong C., Xie Z., Yin Q., et al. Parthenogenetic haploid embryonic stem cells efficiently support mouse generation by oocyte injection // *Cell Res.* 2016. Vol. 26, N 1. P. 131–134. doi: 10.1038/cr.2015.132
37. Horii T., Hatada I. Genome Editing Using Mammalian Haploid Cells // *Int J Mol Sci.* 2015. Vol. 16, N 10. P. 23604–23614. doi: 10.3390/ijms161023604
38. Zhong C., Li J. Efficient Generation of Gene-Modified Mice by Haploid Embryonic Stem Cell-Mediated Semi-cloned Technology // *Methods Mol Biol.* 2017. Vol. 1498. P. 121–133. doi: 10.1007/978-1-4939-6472-7_8
39. Ishii T., Eto K. Fetal stem cell transplantation: Past, present, and future // *World J Stem Cells.* 2014. Vol. 6, N 4. P. 404–420. doi: 10.4252/wjsc.v6.i4.404
40. Deuse T., Stubbendorff M., Tang-Quan K., et al. Immunogenicity and immunomodulatory properties of umbilical cord lining mesenchymal stem cells // *Cell Transplant.* 2011. Vol. 20, N 5. P. 655–667. doi: 10.3727/096368910X536473
41. Brunstein C.G., Petersdorf E.W., DeFor T.E., et al. Impact of Allele-Level HLA Mismatch on Outcomes in Recipients of Double Umbilical Cord Blood Transplantation // *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016. Vol. 22, N 3. P. 487–492. doi: 10.1016/j.bbmt.2015.09.025
42. Dessels C., Alessandrini M., Pepper M.S. Factors Influencing the Umbilical Cord Blood Stem Cell Industry: An Evolving Treatment Landscape // *Stem Cells Transl Med.* 2018. Vol. 7, N 9. P. 643–650. doi: 10.1002/sctm.17-0244
43. Wang H.S., Hung S.C., Peng S.T., et al. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord // *Stem Cells.* 2004. Vol. 22, N 7. P. 1330–1337. doi: 10.1634/stemcells.2004-0013
44. Weiss M.L., Medicetty S., Bledsoe A.R., et al. Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease // *Stem Cells.* 2006. Vol. 24, N 3. P. 781–792. doi: 10.1634/stemcells.2005-0330
45. Davies J.E., Walker J.T., Keating A. Concise Review: Wharton's Jelly: The Rich, but Enigmatic, Source of Mesenchymal Stromal Cells // *Stem Cells Transl Med.* 2017. Vol. 6, N 7. P. 1620–1630. doi: 10.1002/sctm.16-0492
46. Beeravolu N., McKee C., Alamri A., et al. Isolation and Characterization of Mesenchymal Stromal Cells from Human Umbilical Cord and Fetal Placenta // *J Vis Exp.* 2017. N 122. P. 55224. doi: 10.3791/55224
47. Stubbendorff M., Deuse T., Hua X., et al. Immunological properties of extraembryonic human mesenchymal stromal cells derived from gestational tissue // *Stem Cells Dev.* 2013. Vol. 22, N 19. P. 2619–2629. doi: 10.1089/scd.2013.0043

48. Ventura Ferreira M.S., Bienert M., Müller K., et al. Comprehensive characterization of chorionic villi-derived mesenchymal stromal cells from human placenta // *Stem Cell Res Ther.* 2018. Vol. 9, N 1. P. 28. doi: 10.1186/s13287-017-0757-1
49. Xie N., Li Z., Adesanya T.M., et al. Transplantation of placenta-derived mesenchymal stem cells enhances angiogenesis after ischemic limb injury in mice // *J Cell Mol Med.* 2016. Vol. 20, N 1. P. 29–37. doi: 10.1111/jcmm.12489
50. Nagaya N., Fujii T., Iwase T., et al. Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis and myogenesis // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004. Vol. 287, N 6. P. H2670–2676. doi: 10.1152/ajpheart.01071.2003
51. Tran T.C., Kimura K., Nagano M., et al. Identification of human placenta-derived mesenchymal stem cells involved in re-endothelialization // *J Cell Physiol.* 2011. Vol. 226, N 1. P. 224–235. doi: 10.1002/jcp.22329
52. Komaki M., Numata Y., Morioka C., et al. Exosomes of human placenta-derived mesenchymal stem cells stimulate angiogenesis // *Stem Cell Res Ther.* 2017. Vol. 8, N 1. P. 219. doi: 10.1186/s13287-017-0660-9
53. Vegh I., Grau M., Gracia M., et al. Decidua mesenchymal stem cells migrated toward mammary tumors in vitro and in vivo affecting tumor growth and tumor development // *Cancer Gene Ther.* 2013. Vol. 20, N 1. P. 8–16. doi: 10.1038/cgt.2012.71
54. Paris J.L., de la Torre P., Manzano M., et al. Decidua-derived mesenchymal stem cells as carriers of mesoporous silica nanoparticles. In vitro and in vivo evaluation on mammary tumors // *Acta Biomater.* 2016. Vol. 33. P. 275–282. doi: 10.1016/j.actbio.2016.01.017
55. Zhou Y., Gan S.U., Lin G., et al. Characterization of human umbilical cord lining-derived epithelial cells and transplantation potential // *Cell Transplant.* 2011. Vol. 20, N 11–12. P. 1827–1841. doi: 10.3727/096368910X564085
56. Miki T. Stem cell characteristics and the therapeutic potential of amniotic epithelial cells // *Am J Reprod Immunol.* 2018. Vol. 80, N 4. P. e13003. doi: 10.1111/aji.13003
57. Miki T., Lehmann T., Cai H., et al. Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells // *Stem Cells.* 2005. Vol. 23, N 10. P. 1549–1559. doi: 10.1634/stemcells.2004-0357
58. Motedayyen H., Esmail N., Tajik N., et al. Method and key points for isolation of human amniotic epithelial cells with high yield, viability and purity // *BMC Res Notes.* 2017. Vol. 10, N 1. P. 552. doi: 10.1186/s13104-017-2880-6
59. Bryzek A., Czekaj P., Plewka D., et al. Expression and co-expression of surface markers of pluripotency on human amniotic cells cultured in different growth media // *Ginek Pol.* 2013. Vol. 84, N 12. P. 1012–1024. doi: 10.17772/gp/1673
60. Lim I.J., Phan T.T. Epithelial and mesenchymal stem cells from the umbilical cord lining membrane // *Cell Transplant.* 2014. Vol. 23, N 4–5. P. 497–503. doi: 10.3727/096368914X678346
61. Ermolaeva M., Neri F., Ori A., Rudolph K.L. Cellular and epigenetic drivers of stem cell ageing // *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018. Vol. 19, N 9. P. 594–610. doi: 10.1038/s41580-018-0020-3
62. Goodell M.A., Nguyen H., Shroyer N. Somatic stem cell heterogeneity: diversity in the blood, skin and intestinal stem cell compartments // *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2015. Vol. 16, N 5. P. 299–309. doi: 10.1038/nrm3980
63. Ema H., Morita Y., Suda T. Heterogeneity and hierarchy of hematopoietic stem cells // *Exp Hematol.* 2014. Vol. 42, N 2. P. 74–82.e2. doi: 10.1016/j.exphem.2013.11.004
64. Ratajczak M.Z., Zuba-Surma E.K., Wysoczynski M., et al. Very small embryonic-like stem cells: characterization, developmental origin, and biological significance // *Exp Hematol.* 2008. Vol. 36, N 6. P. 742–751. doi: 10.1016/j.exphem.2008.03.010
65. Abbott A. Doubt cast over tiny stem cells // *Nature.* 2013. Vol. 499, N 7459. P. 390. doi: 10.1038/499390a
66. Ratajczak M.Z., Zuba-Surma E., Wojakowski W., et al. Very small embryonic-like stem cells (VSELs) represent a real challenge in stem cell biology: recent pros and cons in the midst of a lively debate // *Leukemia.* 2014. Vol. 28, N 3. P. 473–484. doi: 10.1038/leu.2013.255
67. Ferraro F., Celso C.L., Scadden D. Adult stem cells and their niches // *Adv Exp Med Biol.* 2010. Vol. 695. P. 155–168. doi: 10.1007/978-1-4419-7037-4_11
68. Wallenfang M.R. Aging within the Stem Cell niche // *Dev Cell.* 2007. Vol. 13, N 5. P. 603–604. doi: 10.1016/j.devcel.2007.10.011
69. Rumman M., Dhawan J., Kassem M. Concise Review: Quiescence in Adult Stem Cells: Biological Significance and Relevance to Tissue Regeneration // *Stem Cells.* 2015. Vol. 33, N 10. P. 2903–2912. doi: 10.1002/stem.2056
70. Rodgers J.T., King K.Y., Brett J.O., et al. mTORC1 controls the adaptive transition of quiescent stem cells from G0 to G(Alert) // *Nature.* 2014. Vol. 510, N 7505. P. 393–396. doi: 10.1038/nature13255
71. Morrison S.J., Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer // *Nature.* 2006. Vol. 441, N 7097. P. 1068–1074. doi: 10.1038/nature04956
72. Bu P., Chen K.Y., Lipkin S.M., Shen X. Asymmetric division: a marker for cancer stem cells in early stage tumors? // *Oncotarget.* 2013. Vol. 4, N 7. P. 950–951. doi: 10.18632/oncotarget.1029
73. Buczacki S.J., Zecchini H.I., Nicholson A.M., et al. Intestinal label-retaining cells are secretory precursors expressing Lgr5 // *Nature.* 2013. Vol. 495, N 7439. P. 65–69. doi: 10.1038/nature11965
74. Maximow A. Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. (Demonstrationsvortrag, gehalten in der ausserordentlichen Sitzung der Berliner Hämatologischen Gesellschaft am 1. Juni 1909) // *Folia Haematol.* 1909. N 8. P. 125–134.
75. Müller A.M., Huppertz S., Henschler R. Hematopoietic Stem Cells in Regenerative Medicine: Astray or on the Path? // *Transfus Med Hemother.* 2016. Vol. 43, N 4. P. 247–254. doi: 10.1159/000447748
76. Sirinoglu Demiriz I., Tekgunduz E., Altuntas F. What is the most appropriate source for hematopoietic stem cell transplantation? Peripheral stem cell/bone marrow/cord blood // *Bone Marrow Res.* 2012. P. 834040. doi: 10.1155/2012/834040
77. Caplan A.I. Mesenchymal stem cells // *J Orthop Res.* 1991. Vol. 9, N 5. P. 641–650. doi: 10.1002/jor.1100090504
78. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytotherapy.* 2006. Vol. 8, N 4. P. 315–317. doi: 10.1080/14653240600855905
79. Berebichez-Fridman R., Montero-Olvera P.R. Sources and Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells: State-of-the-art review // *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2018. Vol. 18, N 3. P. e264–e277. doi: 10.18295/squmj.2018.18.03.002
80. Caplan A.I. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! // *Stem Cells Transl Med.* 2017. Vol. 6, N 6. P. 1445–1451. doi: 10.1002/sctm.17-0051

81. Sacchetti B., Funari A., Remoli C., et al. No Identical "Mesenchymal Stem Cells" at Different Times and Sites: Human Committed Progenitors of Distinct Origin and Differentiation Potential Are Incorporated as Adventitial Cells in Microvessels // *Stem Cell Reports*. 2016. Vol. 6, N 6. P. 897–913. doi: 10.1016/j.stemcr.2016.05.011
82. Isobe Y., Koyama N., Nakao K., et al. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovial fluid, adult dental pulp, and exfoliated deciduous tooth pulp // *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016. Vol. 45, N 1. P. 124–131. doi: 10.1016/j.ijom.2015.06.022
83. Sipp D., Robey P.G., Turner L. Clear up this stem-cell mess // *Nature*. 2018. Vol. 561, N 7724. P. 455–457. doi: 10.1038/d41586-018-06756-9
84. Crisan M., Yap S., Casteilla L., et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs // *Cell Stem Cell*. 2008. Vol. 3, N 3. P. 301–313. doi: 10.1016/j.stem.2008.07.003
85. De Ugarte D.A., Morizono K., Elbarbary A., et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow // *Cells Tissues Organs*. 2003. Vol. 174, N 3. P. 101–109. doi: 10.1159/000071150
86. Li C.Y., Wu X.Y., Tong J.B., et al. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy // *Stem Cell Res Ther*. 2015. Vol. 6, N 1. P. 55. doi: 10.1186/s13287-015-0066-5
87. Sebo Z.L., Jeffery E., Holtrup B., Rodeheffer M.S. A mesodermal fate map for adipose tissue // *Development*. 2018. Vol. 145, N 17. P. dev166801. doi: 10.1242/dev.166801
88. González E.A.P. Heterogeneity in adipose stem cells. In: *Stem Cells Heterogeneity—Novel Concepts*. Cham: Springer, 2019. P. 119–150.
89. Усольцева Е.О., Джемлиханова Л.Х., Ниаури Д.А., и др. Способность клеточного продукта на основе эндометриальных стволовых клеток к экспансии при локальном и системном введении в условиях экспериментальной модели заболевания эндометрия // *Журнал акушерства и женских болезней*. 2016. Т. 65, № 1. С. 62–68. doi: 10.17816/JOWD65162-68
90. Cuenca J., Le-Gatt A., Castillo V., et al. The Reparative Abilities of Menstrual Stem Cells Modulate the Wound Matrix Signals and Improve Cutaneous Regeneration // *Front Physiol*. 2018. Vol. 9. P. 464. doi: 10.3389/fphys.2018.00464
91. Сагитов И.И., Шафигуллина А.К., Салеева Г.Т., и др. Получение популяции эктомезенхимных клеток со свойствами стволовых и прогениторных клеток из пульпы постоянных зубов // *Гены и клетки*. 2014. № 3. С. 112–117.
92. Шамсутдинов М.И., Титова М.А., Салеева Г.Т., Киясов А.Л. Экспрессия эпителиальных (EMA, ESA) и мезенхимальных (A-SMA, CD31) антигенов в клетках пульпы зубов человека // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2009. Т. 4, № 1. С. 52–58.
93. Janebodan K., Horst O.V., Ieronimakakis N., et al. Isolation and characterization of neural crest-derived stem cells from dental pulp of neonatal mice // *PLoS One*. 2011. Vol. 6, N 11. P. e27526. doi: 10.1371/journal.pone.0027526
94. Кольцова А.М., Зенин В.В., Турилова В.И., и др. Получение и характеристика линии мезенхимных стволовых клеток, выделенной из пульпы молочного зуба человека // *Цитология*. 2018. Т. 60, № 12. С. 955–968. doi: 10.1134/S0041377118120015
95. Lin X., Dong R., Diao S., et al. SFRP2 enhanced the adipogenic and neuronal differentiation potentials of stem cells from apical papilla // *Cell Biol Int*. 2017. Vol. 41, N 5. P. 534–543. doi: 10.1002/cbin.10757
96. Chai Y., Jiang X., Ito Y., et al. Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis // *Development*. 2000. Vol. 127, N 8. P. 1671–1679. doi: 10.1242/dev.127.8.1671
97. Romeo L., Diomedea F., Gugliandolo A., et al. Moringin Induces Neural Differentiation in the Stem Cell of the Human Periodontal Ligament // *Sci Rep*. 2018. Vol. 8, N 1. P. 9153. doi: 10.1038/s41598-018-27492-0
98. Patil R., Kumar B.M., Lee W.J., et al. Multilineage potential and proteomic profiling of human dental stem cells derived from a single donor // *Exp Cell Res*. 2014. Vol. 320, N 1. P. 92–107. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.10.005
99. Tomasetti C., Vogelstein B. Cancer etiology. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions // *Science*. 2015. Vol. 347, N 6217. P. 78–81. doi: 10.1126/science.1260825
100. Page M.E., Lombard P., Ng F., et al. The epidermis comprises autonomous compartments maintained by distinct stem cell populations // *Cell Stem Cell*. 2013. Vol. 13, N 4. P. 471–482. doi: 10.1016/j.stem.2013.07.010
101. Moghadas Boroujeni S., Koontz A., Tseropoulos G., et al. Neural crest stem cells from human epidermis of aged donors maintain their multipotency in vitro and in vivo // *Sci Rep*. 2019. Vol. 9, N 1. P. 9750. doi: 10.1038/s41598-019-46140-9
102. Гнедева К.Ю., Воротеяк Е.А., Васильев А.В., и др. Дифференцировочный и морфогенетический потенциал клеток дермальной папиллы крысы // *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. 2011. Т. 38, № 6. С. 653–658.
103. Asakawa K., Toyoshima K.E., Tsuji T. Functional Hair Follicle Regeneration by the Rearrangement of Stem Cells // *Methods Mol Biol*. 2017. Vol. 1597. P. 117–134. doi: 10.1007/978-1-4939-6949-4_9
104. Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors // *Cell*. 2007. Vol. 131, N 5. P. 861–872. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.019
105. Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K., et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells // *Science*. 2007. Vol. 318, N 5858. P. 1917–1920. doi: 10.1126/science.1151526
106. Santos F., Hendrich B., Reik W., Dean W. Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo // *Dev Biol*. 2002. Vol. 241, N 1. P. 172–182. doi: 10.1006/dbio.2001.0501
107. Lin S.L. Concise review: Deciphering the mechanism behind induced pluripotent stem cell generation // *Stem Cells*. 2011. Vol. 29, N 11. P. 1645–1649. doi: 10.1002/stem.744
108. Мучкаева И.А., Дашинимаев Э.Б., Артюхов А.С., и др. Репрограммирование клеток дермальной папиллы человека до плюрипотентного состояния // *Acta Naturae*. 2014. Т. 6, № 1 (20). С. 48–57.
109. Omole A.E., Fakoya A.O.J. Ten years of progress and promise of induced pluripotent stem cells: historical origins, characteristics, mechanisms, limitations, and potential applications // *PeerJ*. 2018. Vol. 6. P. e4370. doi: 10.7717/peerj.4370
110. Kooreman N.G., Kim Y., de Almeida P.E., et al. Autologous iPSC-Based Vaccines Elicit Anti-tumor Responses In Vivo // *Cell Stem Cell*. 2018. Vol. 22, N 4. P. 501–513.e7. doi: 10.1016/j.stem.2018.01.016
111. Ji J., Ng S.H., Sharma V., et al. Elevated coding mutation rate during the reprogramming of human somatic cells into induced pluripotent stem cells // *Stem Cells*. 2012. Vol. 30, N 3. P. 435–440. doi: 10.1002/stem.1011
112. Lo Sardo V., Ferguson W., Erikson G.A., et al. Influence of donor age on induced pluripotent stem cells // *Nat Biotechnol*. 2017. Vol. 35, N 1. P. 69–74. doi: 10.1038/nbt.3749

113. Cai J., Li W., Su H., et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from umbilical cord matrix and amniotic membrane mesenchymal cells // *J Biol Chem*. 2010. Vol. 285, N 15. P. 11227–11234. doi: 10.1074/jbc.M109.086389
114. Li Z., Lu H., Yang W., et al. Mouse SCNT ESCs have lower somatic mutation load than syngeneic iPSCs // *Stem Cell Reports*. 2014. Vol. 2, N 4. P. 399–405. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.02.005
115. Mayshar Y., Ben-David U., Lavon N., et al. Identification and classification of chromosomal aberrations in human induced pluripotent stem cells // *Cell Stem Cell*. 2010. Vol. 7, N 4. P. 521–531. doi: 10.1016/j.stem.2010.07.017
116. Schoenhals M., Kassambara A., De Vos J., et al. Embryonic stem cell markers expression in cancers // *Biochem Biophys Res Commun*. 2009. Vol. 383, N 2. P. 157–162. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.02.156
117. Horikawa I., Park K.Y., Isogaya K., et al. $\Delta 133p53$ represses p53-inducible senescence genes and enhances the generation of human induced pluripotent stem cells // *Cell Death Differ*. 2017. Vol. 24, N 6. P. 1017–1028. doi: 10.1038/cdd.2017.48
118. Li W., Zhou H., Abujarour R., et al. Generation of human-induced pluripotent stem cells in the absence of exogenous Sox2 // *Stem Cells*. 2009. Vol. 27, N 12. P. 2992–3000. doi: 10.1002/stem.240
119. Li Y., Zhang Q., Yin X., et al. Generation of iPSCs from mouse fibroblasts with a single gene, Oct4, and small molecules // *Cell Res*. 2011. Vol. 21, N 1. P. 196–204. doi: 10.1038/cr.2010.142
120. Shi Y., Inoue H., Wu J.C., Yamanaka S. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress // *Nat Rev Drug Discov*. 2017. Vol. 16, N 2. P. 115–130. doi: 10.1038/nrd.2016.245
121. Si-Tayeb K., Noto F.K., Sepac A., et al. Generation of human induced pluripotent stem cells by simple transient transfection of plasmid DNA encoding reprogramming factors // *BMC Dev Biol*. 2010. Vol. 10. P. 81. doi: 10.1186/1471-213X-10-81
122. Lin S.L., Chang D.C., Ying S.Y., et al. MicroRNA miR-302 inhibits the tumorigenicity of human pluripotent stem cells by coordinate suppression of the CDK2 and CDK4/6 cell cycle pathways // *Cancer Res*. 2010. Vol. 70, N 22. P. 9473–9482. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2746
123. Deng X.Y., Wang H., Wang T., et al. Non-viral methods for generating integration-free, induced pluripotent stem cells // *Curr Stem Cell Res Ther*. 2015. Vol. 10, N 2. P. 153–158. doi: 10.2174/1574888x09666140923101914
124. Lim J., Kim J., Kang J., Jo D. Partial somatic to stem cell transformations induced by cell-permeable reprogramming factors // *Sci Rep*. 2014. Vol. 4. P. 4361. doi: 10.1038/srep04361
125. Liu X., Sun H., Qi J., et al. Sequential introduction of reprogramming factors reveals a time-sensitive requirement for individual factors and a sequential EMT-MET mechanism for optimal reprogramming // *Nat Cell Biol*. 2013. Vol. 15, N 7. P. 829–838. doi: 10.1038/ncb2765
126. Nagashima T., Shimizu K., Matsumoto R., Honda H. Selective Elimination of Human Induced Pluripotent Stem Cells Using Medium with High Concentration of L-Alanine // *Sci Rep*. 2018. Vol. 8, N 1. P. 12427. doi: 10.1038/s41598-018-30936-2
127. Murray L.M.A., Krasnodembskaya A.D. Concise Review: Intercellular Communication Via Organelle Transfer in the Biology and Therapeutic Applications of Stem Cells // *Stem Cells*. 2019. Vol. 37, N 1. P. 14–25. doi: 10.1002/stem.2922
128. Phinney D.G., Di Giuseppe M., Njah J., et al. Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microRNAs // *Nat Commun*. 2015. Vol. 6. P. 8472. doi: 10.1038/ncomms9472

REFERENCES

1. Approved Cellular and Gene Therapy Products [Internet]. Food and Drug Administration; 2022 [cited 2022 Sept 13]. Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/approved-cellular-and-gene-therapy-products>.
2. Sipp D, Caulfield T, Kaye J, et al. Marketing of unproven stem cell-based interventions: A call to action. *Sci Transl Med*. 2017;9(397):eaag0426. doi: 10.1126/scitranslmed.aag0426
3. Stem cell facts [Internet]. International Society for Stem Cell Research; 2018. 6 p. [cited 2022 Sept 13]. Available from: <https://www.closerlookatstemcells.org/wp-content/uploads/2018/10/stem-cell-facts.pdf>.
4. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282(5391):1145–1147. doi: 10.1126/science.282.5391.1145. Erratum in: *Science*. 1998;282(5395):1827.
5. Stachelscheid H, Wulf-Goldenberg A, Eckert K, et al. Teratoma formation of human embryonic stem cells in three-dimensional perfusion culture bioreactors. *J Tissue Eng Regen Med*. 2013;7(9):729–741. doi: 10.1002/term.1467
6. Zhang WY, de Almeida PE, Wu JC. Teratoma formation: A tool for monitoring pluripotency in stem cell research. In: *StemBook*. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2012.
7. Hentze H, Soong PL, Wang ST, et al. Teratoma formation by human embryonic stem cells: evaluation of essential parameters for future safety studies. *Stem Cell Res*. 2009;2(3):198–210. doi: 10.1016/j.scr.2009.02.002
8. Drukker M, Katz G, Urbach A, et al. Characterization of the expression of MHC proteins in human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(15):9864–9869. doi: 10.1073/pnas.142298299
9. Liu Y, Li Y, Hwang A, et al. Comparison of three embryo culture methods for derivation of human embryonic stem cells from discarded embryos. *Cell Reprogram*. 2011;13(3):233–239. doi: 10.1089/cell.2010.0092
10. Amit M, Carpenter MK, Inokuma MS, et al. Clonally derived human embryonic stem cell lines maintain pluripotency and proliferative potential for prolonged periods of culture. *Dev Biol*. 2000;227(2):271–278. doi: 10.1006/dbio.2000.9912
11. Zucchelli M, Ström S, Holm F, et al. In vivo differentiated human embryonic stem cells can acquire chromosomal aberrations more frequently than in vitro during the same period. *Stem Cells Dev*. 2012;21(18):3363–3371. doi: 10.1089/scd.2012.0066
12. Yang R, Liu F, Wang J, et al. Epidermal stem cells in wound healing and their clinical applications. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):229. doi: 10.1186/s13287-019-1312-z. Erratum in: *Stem Cell Res Ther*. 2019;11(1):447.
13. Hovatta O, Jaconi M, Tökönen V, et al. A teratocarcinoma-like human embryonic stem cell (hESC) line and four hESC lines reveal potentially oncogenic genomic changes. *PLoS One*. 2010;5(4):e10263. doi: 10.1371/journal.pone.0010263
14. Ben-David U, Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(4):268–277. doi: 10.1038/nrc3034

15. Geens M, Mateizel I, Sermon K, et al. Human embryonic stem cell lines derived from single blastomeres of two 4-cell stage embryos. *Hum Reprod.* 2009;24(11):2709–2717. doi: 10.1093/humrep/dep262
16. Feki A, Bosman A, Dubuisson JB, et al. Derivation of the first Swiss human embryonic stem cell line from a single blastomere of an arrested four-cell stage embryo. *Swiss Med Wkly.* 2008;138(37–38):540–550.
17. Tachibana M, Amato P, Sparman M, et al. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell.* 2013;153(6):1228–1238. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.006
18. Chung YG, Eum JH, Lee JE, et al. Human somatic cell nuclear transfer using adult cells. *Cell Stem Cell.* 2014;14(6):777–780. doi: 10.1016/j.stem.2014.03.015
19. Tao H, Chen X, Wei A, et al. Comparison of Teratoma Formation between Embryonic Stem Cells and Parthenogenetic Embryonic Stem Cells by Molecular Imaging. *Stem Cells Int.* 2018;7906531. doi: 10.1155/2018/7906531
20. McGrath J, Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell.* 1984;37(1):179–183. doi: 10.1016/0092-8674(84)90313-1
21. Abaturon AE. Exogenous factors affect genomic imprinting 3. Impact of ancillary reproductive technologies. *Zdorov'e Rebenka.* 2016;(7):162–169. (In Russ). doi: 10.22141/2224-0551.7.75.2016.86744
22. Strain L, Warner JP, Johnston T, Bonthron DT. A human parthenogenetic chimaera. *Nat Genet.* 1995;11(2):164–169. doi: 10.1038/ng1095-164
23. Winberg J, Gustavsson P, Lagerstedt-Robinson K, et al. Chimerism resulting from parthenogenetic activation and dispermic fertilization. *Am J Med Genet A.* 2010;152A(9):2277–2286. doi: 10.1002/ajmg.a.33594
24. Giltay JC, Brunt T, Beemer FA, et al. Polymorphic detection of a parthenogenetic maternal and double paternal contribution to a 46,XX/46,XY hermaphrodite. *Am J Hum Genet.* 1998;62(4):937–940. doi: 10.1086/301796
25. Humpherys D, Eggan K, Akutsu H, et al. Epigenetic instability in ES cells and cloned mice. *Science.* 2001;293(5527):95–97. doi: 10.1126/science.1061402
26. Revazova ES, Turovets NA, Kochetkova OD, et al. Patient-specific stem cell lines derived from human parthenogenetic blastocysts. *Cloning Stem Cells.* 2007;9(3):432–449. doi: 10.1089/clo.2007.0033
27. Kim K, Lerou P, Yabuuchi A, et al. Histocompatible embryonic stem cells by parthenogenesis. *Science.* 2007;315(5811):482–486. doi: 10.1126/science.1133542
28. Bennett M, Yu YY, Stoneman E, et al. Hybrid resistance: 'negative' and 'positive' signaling of murine natural killer cells. *Semin Immunol.* 1995;7(2):121–127. doi: 10.1006/smim.1995.0016
29. Zhao Q, Wang J, Zhang Y, et al. Generation of histocompatible androgenetic embryonic stem cells using spermatogenic cells. *Stem Cells.* 2010;28(2):229–239. doi: 10.1002/stem.283
30. Ding C, Huang S, Qi Q, et al. Derivation of a Homozygous Human Androgenetic Embryonic Stem Cell Line. *Stem Cells Dev.* 2015;24(19):2307–2316. doi: 10.1089/scd.2015.0031
31. Sagi I, Chia G, Golan-Lev T, et al. Derivation and differentiation of haploid human embryonic stem cells. *Nature.* 2016;532(7597):107–111. doi: 10.1038/nature17408
32. Liu G, Wang X, Liu Y, et al. Arrayed mutant haploid embryonic stem cell libraries facilitate phenotype-driven genetic screens. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(22):e180. doi: 10.1093/nar/gkx857
33. Tesarik J. Reproductive semi-cloning respecting biparental embryo origin: embryos from syngamy between a gamete and a haploidized somatic cell. *Hum Reprod.* 2002;17(8):1933–1937. doi: 10.1093/humrep/17.8.1933
34. Li W, Shuai L, Wan H, et al. Androgenetic haploid embryonic stem cells produce live transgenic mice. *Nature.* 2012;490(7420):407–411. doi: 10.1038/nature11435
35. Li Z, Wan H, Feng G, et al. Birth of fertile bimaternal offspring following intracytoplasmic injection of parthenogenetic haploid embryonic stem cells. *Cell Res.* 2016;26(1):135–138. doi: 10.1038/cr.2015.151
36. Zhong C, Xie Z, Yin Q, et al. Parthenogenetic haploid embryonic stem cells efficiently support mouse generation by oocyte injection. *Cell Res.* 2016;26(1):131–134. doi: 10.1038/cr.2015.132
37. Horii T, Hatada I. Genome Editing Using Mammalian Haploid Cells. *Int J Mol Sci.* 2015;16(10):23604–23614. doi: 10.3390/ijms161023604
38. Zhong C, Li J. Efficient Generation of Gene-Modified Mice by Haploid Embryonic Stem Cell-Mediated Semi-cloned Technology. *Methods Mol Biol.* 2017;1498:121–133. doi: 10.1007/978-1-4939-6472-7_8
39. Ishii T, Eto K. Fetal stem cell transplantation: Past, present, and future. *World J Stem Cells.* 2014;6(4):404–420. doi: 10.4252/wjsc.v6.i4.404
40. Deuse T, Stubbendorff M, Tang-Quan K, et al. Immunogenicity and immunomodulatory properties of umbilical cord lining mesenchymal stem cells. *Cell Transplant.* 2011;20(5):655–667. doi: 10.3727/096368910X536473
41. Brunstein CG, Petersdorf EW, DeFor TE, et al. Impact of Allele-Level HLA Mismatch on Outcomes in Recipients of Double Umbilical Cord Blood Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22(3):487–492. doi: 10.1016/j.bbmt.2015.09.025
42. Dessels C, Alessandrini M, Pepper MS. Factors Influencing the Umbilical Cord Blood Stem Cell Industry: An Evolving Treatment Landscape. *Stem Cells Transl Med.* 2018;7(9):643–650. doi: 10.1002/sctm.17-0244
43. Wang HS, Hung SC, Peng ST, et al. Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells.* 2004;22(7):1330–1337. doi: 10.1634/stemcells.2004-0013
44. Weiss ML, Medicetty S, Bledsoe AR, et al. Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease. *Stem Cells.* 2006;24(3):781–792. doi: 10.1634/stemcells.2005-0330
45. Davies JE, Walker JT, Keating A. Concise Review: Wharton's Jelly: The Rich, but Enigmatic, Source of Mesenchymal Stromal Cells. *Stem Cells Transl Med.* 2017;6(7):1620–1630. doi: 10.1002/sctm.16-0492
46. Beeravolu N, McKee C, Alamri A, et al. Isolation and Characterization of Mesenchymal Stromal Cells from Human Umbilical Cord and Fetal Placenta. *J Vis Exp.* 2017;(122):55224. doi: 10.3791/55224
47. Stubbendorff M, Deuse T, Hua X, et al. Immunological properties of extraembryonic human mesenchymal stromal cells derived from gestational tissue. *Stem Cells Dev.* 2013;22(19):2619–2629. doi: 10.1089/scd.2013.0043
48. Ventura Ferreira MS, Bienert M, Müller K, et al. Comprehensive characterization of chorionic villi-derived mesenchymal stromal cells from human placenta. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):28. doi: 10.1186/s13287-017-0757-1
49. Xie N, Li Z, Adesanya TM, et al. Transplantation of placenta-derived mesenchymal stem cells enhances angiogenesis after ischemic limb injury in mice. *J Cell Mol Med.* 2016;20(1):29–37. doi: 10.1111/jcmm.12489

50. Nagaya N, Fujii T, Iwase T, et al. Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis and myogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287(6):H2670–2676. doi: 10.1152/ajpheart.01071.2003
51. Tran TC, Kimura K, Nagano M, et al. Identification of human placenta-derived mesenchymal stem cells involved in re-endothelialization. *J Cell Physiol*. 2011;226(1):224–235. doi: 10.1002/jcp.22329
52. Komaki M, Numata Y, Morioka C, et al. Exosomes of human placenta-derived mesenchymal stem cells stimulate angiogenesis. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):219. doi: 10.1186/s13287-017-0660-9
53. Vegh I, Grau M, Gracia M, et al. Decidua mesenchymal stem cells migrated toward mammary tumors in vitro and in vivo affecting tumor growth and tumor development. *Cancer Gene Ther*. 2013;20(1):8–16. doi: 10.1038/cgt.2012.71
54. Paris JL, de la Torre P, Manzano M, et al. Decidua-derived mesenchymal stem cells as carriers of mesoporous silica nanoparticles. In vitro and in vivo evaluation on mammary tumors. *Acta Biomater*. 2016;33:275–282. doi: 10.1016/j.actbio.2016.01.017
55. Zhou Y, Gan SU, Lin G, et al. Characterization of human umbilical cord lining-derived epithelial cells and transplantation potential. *Cell Transplant*. 2011;20(11-12):1827–1841. doi: 10.3727/096368910X564085
56. Miki T. Stem cell characteristics and the therapeutic potential of amniotic epithelial cells. *Am J Reprod Immunol*. 2018. Vol. 80, N 4. P. e13003. doi: 10.1111/aji.13003
57. Miki T, Lehmann T, Cai H, et al. Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells. *Stem Cells*. 2005;23(10):1549–1559. doi: 10.1634/stemcells.2004-0357
58. Motedayyen H, Esmaeil N, Tajik N, et al. Method and key points for isolation of human amniotic epithelial cells with high yield, viability and purity. *BMC Res Notes*. 2017;10(1):552. doi: 10.1186/s13104-017-2880-6
59. Bryzek A, Czekaj P, Plewka D, et al. Expression and co-expression of surface markers of pluripotency on human amniotic cells cultured in different growth media. *Ginekolog Pol*. 2013;84(12):1012–1024. doi: 10.17772/gp/1673
60. Lim IJ, Phan TT. Epithelial and mesenchymal stem cells from the umbilical cord lining membrane. *Cell Transplant*. 2014;23(4-5):497–503. doi: 10.3727/096368914X678346
61. Ermolaeva M, Neri F, Ori A, Rudolph KL. Cellular and epigenetic drivers of stem cell ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2018;19(9):594–610. doi: 10.1038/s41580-018-0020-3
62. Goodell MA, Nguyen H, Shroyer N. Somatic stem cell heterogeneity: diversity in the blood, skin and intestinal stem cell compartments. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2015;16(5):299–309. doi: 10.1038/nrm3980
63. Ema H, Morita Y, Suda T. Heterogeneity and hierarchy of hematopoietic stem cells. *Exp Hematol*. 2014;42(2):74–82.e2. doi: 10.1016/j.exphem.2013.11.004
64. Ratajczak MZ, Zuba-Surma EK, Wysoczynski M, et al. Very small embryonic-like stem cells: characterization, developmental origin, and biological significance. *Exp Hematol*. 2008;36(6):742–751. doi: 10.1016/j.exphem.2008.03.010
65. Abbott A. Doubt cast over tiny stem cells. *Nature*. 2013;499(7459):390. doi: 10.1038/499390a
66. Ratajczak MZ, Zuba-Surma E, Wojakowski W, et al. Very small embryonic-like stem cells (VSELs) represent a real challenge in stem cell biology: recent pros and cons in the midst of a lively debate. *Leukemia*. 2014;28(3):473–484. doi: 10.1038/leu.2013.255
67. Ferraro F, Celso CL, Scadden D. Adult stem cells and their niches. *Adv Exp Med Biol*. 2010;695:155–168. doi: 10.1007/978-1-4419-7037-4_11
68. Wallenfang MR. Aging within the Stem Cell niche. *Dev Cell*. 2007;13(5):603–604. doi: 10.1016/j.devcel.2007.10.011
69. Rumman M, Dhawan J, Kassem M. Concise Review: Quiescence in Adult Stem Cells: Biological Significance and Relevance to Tissue Regeneration. *Stem Cells*. 2015;33(10):2903–2912. doi: 10.1002/stem.2056
70. Rodgers JT, King KY, Brett JO, et al. mTORC1 controls the adaptive transition of quiescent stem cells from G0 to G(Alert). *Nature*. 2014;510(7505):393–396. doi: 10.1038/nature13255
71. Morrison SJ, Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature*. 2006;441(7097):1068–1074. doi: 10.1038/nature04956
72. Bu P, Chen KY, Lipkin SM, Shen X. Asymmetric division: a marker for cancer stem cells in early stage tumors? *Oncotarget*. 2013;4(7):950–951. doi: 10.18632/oncotarget.1029
73. Buczacck SJ, Zecchini HI, Nicholson AM, et al. Intestinal label-retaining cells are secretory precursors expressing Lgr5. *Nature*. 2013;495(7439):65–69. doi: 10.1038/nature11965
74. Maximow A. Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. (Demonstrationsvortrag, gehalten in der ausserordentlichen Sitzung der Berliner Hämatologischen Gesellschaft am 1. Juni 1909). *Folia Haematol*. 1909;(8):125–134.
75. Müller AM, Huppertz S, Henschler R. Hematopoietic Stem Cells in Regenerative Medicine: Astray or on the Path? *Transfus Med Hemother*. 2016;43(4):247–254. doi: 10.1159/000447748
76. Sirinoglu Demiriz I, Tekgunduz E, Altuntas F. What is the most appropriate source for hematopoietic stem cell transplantation? Peripheral stem cell/bone marrow/cord blood. *Bone Marrow Res*. 2012;834040. doi: 10.1155/2012/834040
77. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*. 1991;9(5):641–650. doi: 10.1002/jor.1100090504
78. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315–317. doi: 10.1080/14653240600855905
79. Berebichez-Fridman R, Montero-Olvera PR. Sources and Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells: State-of-the-art review. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2018;18(3):e264–e277. doi: 10.18295/squmj.2018.18.03.002
80. Caplan AI. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(6):1445–1451. doi: 10.1002/sctm.17-0051
81. Sacchetti B, Funari A, Remoli C, et al. No Identical “Mesenchymal Stem Cells” at Different Times and Sites: Human Committed Progenitors of Distinct Origin and Differentiation Potential Are Incorporated as Adventitial Cells in Microvessels. *Stem Cell Reports*. 2016;6(6):897–913. doi: 10.1016/j.stemcr.2016.05.011
82. Isobe Y, Koyama N, Nakao K, et al. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovial fluid, adult dental pulp, and exfoliated deciduous tooth pulp. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016;45(1):124–131. doi: 10.1016/j.ijom.2015.06.022
83. Sipp D, Robey PG, Turner L. Clear up this stem-cell mess. *Nature*. 2018;561(7724):455–457. doi: 10.1038/d41586-018-06756-9

84. Crisan M, Yap S, Casteilla L, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell*. 2008;3(3):301–313. doi: 10.1016/j.stem.2008.07.003
85. De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs*. 2003;174(3):101–109. doi: 10.1159/000071150
86. Li CY, Wu XY, Tong JB, et al. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy. *Stem Cell Res Ther*. 2015;6(1):55. doi: 10.1186/s13287-015-0066-5
87. Sebo ZL, Jeffery E, Holtrup B, Rodeheffer MS. A mesodermal fate map for adipose tissue. *Development*. 2018;145(17):dev166801. doi: 10.1242/dev.166801
88. González EAP. Heterogeneity in adipose stem cells. In: *Stem Cells Heterogeneity—Novel Concepts*. Cham: Springer; 2019. P.119–150.
89. Usoltceva EO, Dzhemlikhanova LK, Niauri DA, et al. Endometrial stem cells expansion capability for local and systemic routes of administration in a model of experimentally injured endometrium. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2016;65(1):62–68. (In Russ). doi: 10.17816/JOWD65162-68
90. Cuenca J, Le-Gatt A, Castillo V, et al. The Reparative Abilities of Menstrual Stem Cells Modulate the Wound Matrix Signals and Improve Cutaneous Regeneration. *Front Physiol*. 2018;9:464. doi: 10.3389/fphys.2018.00464
91. Sagitov II, Shafigullina AK, Saleeva GT, et al. Deriving population of ectomesenchymal cells with properties of stem progenitor cells from pulp of permanent teeth. *Genes and Cells*. 2014;3(3):112–117. (In Russ).
92. Shamsutdinov MI, Titova MA, Saleeva GT, Kiyasov AP. The Expression of Epithelial (EMA, ESA) and Mesenchymal (a-SMA, CD31) Antigens in Human Dental Pulp Cells. *Genes and Cells*. 2009;4(1):52–58. (In Russ).
93. Janebodin K, Horst OV, Ieronimakis N, et al. Isolation and characterization of neural crest-derived stem cells from dental pulp of neonatal mice. *PLoS One*. 2011;6(11):e27526. doi: 10.1371/journal.pone.0027526
94. Koltsova AM, Zenin VV, Turilova VI, et al. The derivation and characterization of mesenchymal stem cell line, isolated from human pulp of a deciduous tooth. *Cytology*. 2018;60(12):955–968. (In Russ). doi: 10.1134/S0041377118120015
95. Lin X, Dong R, Diao S, et al. SFRP2 enhanced the adipogenic and neuronal differentiation potentials of stem cells from apical papilla. *Cell Biol Int*. 2017;41(5):534–543. doi: 10.1002/cbin.10757
96. Chai Y, Jiang X, Ito Y, et al. Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. *Development*. 2000;127(8):1671–1679. doi: 10.1242/dev.127.8.1671
97. Romeo L, Diomedea F, Gugliandolo A, et al. Moringin Induces Neural Differentiation in the Stem Cell of the Human Periodontal Ligament. *Sci Rep*. 2018;8(1):9153. doi: 10.1038/s41598-018-27492-0
98. Patil R, Kumar BM, Lee WJ, et al. Multilineage potential and proteomic profiling of human dental stem cells derived from a single donor. *Exp Cell Res*. 2014;320(1):92–107. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.10.005
99. Tomasetti C, Vogelstein B. Cancer etiology. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions. *Science*. 2015;347(6217):78–81. doi: 10.1126/science.1260825
100. Page ME, Lombard P, Ng F, et al. The epidermis comprises autonomous compartments maintained by distinct stem cell populations. *Cell Stem Cell*. 2013;13(4):471–482. doi: 10.1016/j.stem.2013.07.010
101. Moghadas Boroujeni S, Koontz A, Tseropoulos G, et al. Neural crest stem cells from human epidermis of aged donors maintain their multipotency in vitro and in vivo. *Sci Rep*. 2019;9(1):9750. doi: 10.1038/s41598-019-46140-9
102. Gnedeva KYu, Vorotelyak EA, Vasiliev AV, et al. Differential and morphogenetic potential of rat dermal papilla cells. *Biology Bulletin*. 2011;38(6):653–658. (In Russ). doi: 10.1134/S1062359011060021
103. Asakawa K, Toyoshima KE, Tsuji T. Functional Hair Follicle Regeneration by the Rearrangement of Stem Cells. *Methods Mol Biol*. 2017;1597:117–134. doi: 10.1007/978-1-4939-6949-4_9
104. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861–872. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.019
105. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*. 2007;318(5858):1917–1920. doi: 10.1126/science.1151526
106. Santos F, Hendrich B, Reik W, Dean W. Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo. *Dev Biol*. 2002;241(1):172–182. doi: 10.1006/dbio.2001.0501
107. Lin SL. Concise review: Deciphering the mechanism behind induced pluripotent stem cell generation. *Stem Cells*. 2011;29(11):1645–1649. doi: 10.1002/stem.744
108. Muchkayeva IA, Dashinimayev EB, Artyukhov AS, et al. Reprogramming human dermal papilla cells to a pluripotent state. *Acta Naturae*. 2014;6(1):48–57. (In Russ).
109. Omole AE, Fakoya AOJ. Ten years of progress and promise of induced pluripotent stem cells: historical origins, characteristics, mechanisms, limitations, and potential applications. *PeerJ*. 2018;6:e4370. doi: 10.7717/peerj.4370
110. Kooreman NG, Kim Y, de Almeida PE, et al. Autologous iPSC-Based Vaccines Elicit Anti-tumor Responses In Vivo. *Cell Stem Cell*. 2018;22(4):501–513.e7. doi: 10.1016/j.stem.2018.01.016
111. Ji J, Ng SH, Sharma V, et al. Elevated coding mutation rate during the reprogramming of human somatic cells into induced pluripotent stem cells. *Stem Cells*. 2012;30(3):435–440. doi: 10.1002/stem.1011
112. Lo Sardo V, Ferguson W, Erikson GA, et al. Influence of donor age on induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2017;35(1):69–74. doi: 10.1038/nbt.3749
113. Cai J, Li W, Su H, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from umbilical cord matrix and amniotic membrane mesenchymal cells. *J Biol Chem*. 2010;285(15):11227–11234. doi: 10.1074/jbc.M109.086389
114. Li Z, Lu H, Yang W, et al. Mouse SCNT ESCs have lower somatic mutation load than syngeneic iPSCs. *Stem Cell Reports*. 2014;2(4):399–405. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.02.005
115. Mayshar Y, Ben-David U, Lavon N, et al. Identification and classification of chromosomal aberrations in human induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*. 2010;7(4):521–531. doi: 10.1016/j.stem.2010.07.017
116. Schoenhals M, Kassambara A, De Vos J, et al. Embryonic stem cell markers expression in cancers. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;383(2):157–162. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.02.156
117. Horikawa I, Park KY, Isogaya K, et al. $\Delta 133p53$ represses p53-inducible senescence genes and enhances the generation of human induced pluripotent stem cells. *Cell Death Differ*. 2017;24(6):1017–1028. doi: 10.1038/cdd.2017.48

- 118.** Li W, Zhou H, Abujarour R, et al. Generation of human-induced pluripotent stem cells in the absence of exogenous Sox2. *Stem Cells*. 2009;27(12):2992–3000. doi: 10.1002/stem.240
- 119.** Li Y, Zhang Q, Yin X, et al. Generation of iPSCs from mouse fibroblasts with a single gene, Oct4, and small molecules. *Cell Res*. 2011;21(1):196–204. doi: 10.1038/cr.2010.142
- 120.** Shi Y, Inoue H, Wu JC, Yamanaka S. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(2):115–130. doi: 10.1038/nrd.2016.245
- 121.** Si-Tayeb K, Noto FK, Sepac A, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells by simple transient transfection of plasmid DNA encoding reprogramming factors. *BMC Dev Biol*. 2010;10:81. doi: 10.1186/1471-213X-10-81
- 122.** Lin SL, Chang DC, Ying SY, et al. MicroRNA miR-302 inhibits the tumorigenicity of human pluripotent stem cells by coordinate suppression of the CDK2 and CDK4/6 cell cycle pathways. *Cancer Res*. 2010;70(22):9473–9482. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2746
- 123.** Deng XY, Wang H, Wang T, et al. Non-viral methods for generating integration-free, induced pluripotent stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2015;10(2):153–158. doi: 10.2174/1574888x09666140923101914
- 124.** Lim J, Kim J, Kang J, Jo D. Partial somatic to stem cell transformations induced by cell-permeable reprogramming factors. *Sci Rep*. 2014;4:4361. doi: 10.1038/srep04361
- 125.** Liu X, Sun H, Qi J, et al. Sequential introduction of reprogramming factors reveals a time-sensitive requirement for individual factors and a sequential EMT-MET mechanism for optimal reprogramming. *Nat Cell Biol*. 2013;15(7):829–838. doi: 10.1038/ncb2765
- 126.** Nagashima T, Shimizu K, Matsumoto R, Honda H. Selective Elimination of Human Induced Pluripotent Stem Cells Using Medium with High Concentration of L-Alanine. *Sci Rep*. 2018;8(1):12427. doi: 10.1038/s41598-018-30936-2
- 127.** Murray LMA, Krasnodembskaya AD. Concise Review: Inter-cellular Communication Via Organelle Transfer in the Biology and Therapeutic Applications of Stem Cells. *Stem Cells*. 2019;37(1):14–25. doi: 10.1002/stem.2922
- 128.** Phinney DG, Di Giuseppe M, Njah J, et al. Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microRNAs. *Nat Commun*. 2015;6:8472. doi: 10.1038/ncomms9472

ОБ АВТОРАХ

* Потоцкая Ольга Юрьевна;

адрес: 49044, Украина, г. Днепр, ул. Владимира Вернадского, д. 9;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6799-7621>;
e-mail: pototskaya.o.yu@gmail.com

Шевченко Екатерина Николаевна;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6788-4013>;
e-mail: temiz_kiz@mail.ru

AUTHOR INFO

Olha Yu. Pototska;

address: 9, Vladimir Vernadsky St., Dnipro, 49044, Ukraine;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6799-7621>;
e-mail: pototskaya.o.yu@gmail.com

Ekaterina N. Shevchenko;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6788-4013>;
e-mail: temiz_kiz@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110838>

Морфологические изменения щитовидной железы крыс разного возраста после введения метионина

Р.В. Янко, М.И. Левашов

Институт физиологии имени А.А. Богомольца Национальной академии наук Украины, Киев, Украина

Аннотация

Обоснование. Несмотря на хорошо изученную роль метионина в организме, литературные данные относительно его влияния на функциональную активность и особенно на морфологические изменения в щитовидной железе единичны, а результаты исследований часто имеют неоднозначный характер, что может быть связано с целым рядом причин: использованием в экспериментах животных разного возраста, различиями в дозировке введения метионина, сезонностью и продолжительностью проведения экспериментов.

Цель — исследовать морфологические изменения щитовидной железы крыс разного возраста после введения метионина.

Материалы и методы. Эксперименты были выполнены на 48 крысах-самцах линии Wistar трёх- и пятнадцатимесячного возраста. Подопытные животные в дополнение к стандартному рациону питания ежедневно в течение 21 суток получали метионин в дозе 250 мг на кг массы тела. Из ткани щитовидной железы изготавливали гистологические препараты по стандартной методике. Морфометрию железы осуществляли на цифровых изображениях с помощью компьютерной программы Image J.

Результаты. Выявлено, что 21-суточное введение метионина крысам как трёх-, так и пятнадцатимесячного возраста приводит к уменьшению площади поперечного сечения фолликулов и коллоида, увеличению фолликулярно-коллоидного индекса, резорбционных вакуолей в коллоиде, увеличению количества интерфолликулярных островков, уменьшению индекса накопления коллоида и относительной площади стромы в железе. Морфологические изменения в щитовидной железе пятнадцатимесячных подопытных крыс проявлялись в большей степени, чем у молодых животных.

Заключение. Введение метионина сопровождается появлением морфологических признаков активации синтетической активности щитовидной железы у крыс разного возраста.

Ключевые слова: метионин; щитовидная железа; морфометрия.

Как цитировать:

Янко Р.В., Левашов М.И. Морфологические изменения щитовидной железы крыс разного возраста после введения метионина // Морфология. 2021. Т. 159, № 3. С. 99–106. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110838>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110838>

Morphological changes in the thyroid gland of rats of different ages after administration of methionine

Roman V. Yanko, Mikhail I. Levashov

Bogomolets Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ABSTRACT

BACKGROUND: Literature data on the effect of methionine on functional activity and, especially, on morphological changes in the thyroid gland are sporadic. This may be due to a number of reasons, such as: different ages of experimental animals; different dosage of methionine; different seasonality and duration of experiments.

AIM: To investigate the morphological changes in the thyroid gland of rats of different ages after methionine administration.

MATERIAL AND METHODS: The experiments were performed on 48 Wistar male rats of 3 and 15 months of age. Experimental animals received methionine daily for 21 days at a dose of 250 mg / kg of body weight in addition to the standard diet. Histological preparations were made from the thyroid tissue according to the standard method. The gland morphometry was performed on digital images using the computer program Image J.

RESULTS: It was found that 21-day administration of methionine to rats of both 3 and 15 months of age led to a decrease in the cross-sectional area of the follicles and colloid, the accumulation index of colloid and the relative area of the connective tissue in the thyroid gland. But the follicular-colloid index, the number of resorption vacuoles in the colloid, and the number of interfollicular islets were increased. Morphological changes in the thyroid gland of 15-month-old experimental rats were manifested to a greater extent than in young animals.

CONCLUSIONS: Thus, the influence of methionine increases the histomorphological signs of the synthetic activity of the thyroid gland in rats of different ages.

Keywords: methionine; thyroid gland; morphometry.

To cite this article:

Yanko RV, Levashov MI. Morphological changes in the thyroid gland of rats of different ages after administration of methionine. *Morphology*. 2021;159(3):99–106. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110838>

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания щитовидной железы (ЩЖ) занимают второе место среди всех патологий желез внутренней секреции [1]. К главным причинам продолжающегося увеличения различных видов патологии ЩЖ относят:

- неблагоприятную экологическую обстановку;
- несбалансированное питание;
- дефицит йода;
- снижение общей и специфической резистентности организма;
- интенсивность воздействия стрессогенных и наследственных факторов.

В связи с этим поиск новых средств повышения активности железы является весьма актуальным. Одним из методов нормализации физиологических функций ЩЖ может быть применение серосодержащих соединений, прежде всего метионина — незаменимой аминокислоты, входящей в состав ферментов и почти всех тканей [2, 3].

Известно, что сера участвует в регуляции выработки гормонов ЩЖ, контролируя преобразование трийодтиронина в тироксин. Когда в организме достаточно серы, то ЩЖ в меньшей степени подтверждена нарушениям выработки своих гормонов в сторону как увеличения, так и уменьшения их продукции [4, 5].

Несмотря на хорошо изученную роль метионина в организме, данные литературы относительно его влияния на морфофункциональное состояние ЩЖ единичны [6, 7]. До последнего времени главное внимание исследователей было сосредоточено на исследовании изменений продукции тиреоидных гормонов и их содержания в крови при введении экзогенного метионина. Однако полученные результаты часто имеют неоднозначный характер [8, 9]. Это может быть связано с использованием в экспериментах животных разного возраста, различиями в дозировке введения метионина, игнорированием сезонного характера и продолжительности проводимых экспериментов.

Большинство имеющихся работ посвящено исследованию влияния дефицита метионина в пище на синтетическую активность ЩЖ [7, 8]. В настоящей работе мы попытались ответить на вопрос о том, как влияет на гистоморфологические показатели ЩЖ дополнительное введение метионина в стандартный рацион питания крысы. Учитывая существующие сведения о том, что ЩЖ в различные возрастные периоды жизни организма по-разному реагирует на одни и те же воздействия [10], для сравнения возрастных морфологических особенностей железы после введения метионина в эксперимент мы взяли крыс разного возраста.

Цель данной работы — исследовать возрастные закономерности морфологических изменений ЩЖ после продолжительного введения метионина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 48 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 3 и 15 мес в осенний период. Животные контрольных и подопытных групп находились в унифицированных условиях содержания со стандартным рационом питания. Крысы были разделены на 4 группы (по 12 животных в каждой): I и III — контрольные животные трёх- и пятнадцатимесячного возраста соответственно, II и IV — молодые и взрослые крысы, которые ежедневно (в 10 ч утра) получали перорально метионин в дозе 250 мг/кг в течение 21 сут. Такая доза метионина может рассматриваться как профилактическая, так как не приводит к существенному повышению его содержания в организме и возникновению гомоцистемии, но является достаточной для коррекции возможного дефицита аминокислоты в организме до значений физиологической нормы. Во избежание стресса при принудительном введении животному метионина препарат вводился в пищу (сырная масса) с визуальным контролем полного съедания порции. Крысы контрольной группы получали аналогичную порцию сырной массы без метионина. Крыс контрольных и опытных групп выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом. Исследования проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986), а также после одобрения комитетом по биомедицинской этике Института физиологии имени А.А. Богомольца Национальной академии наук Украины (протокол № 17 от 31.10.2017).

После выделения ЩЖ из её центральных участков брали образцы ткани, из которых изготавливали гистологические препараты по стандартной методике: фиксировали в жидкости Буэна, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5–6 мкм изготавливали на санном микротоме, окрашивали гематоксилином Беймера и эозином. Для визуализации элементов соединительной ткани применяли методы двух- и трёхцветной окраски по Ван-Гизон и Массону. С использованием цифровой камеры микропрепараты фотографировали на микроскопе Nikon Eclipse E100 (Япония). Морфометрию осуществляли с помощью компьютерной программы ImageJ (NIH, USA).

На гистологических срезах ЩЖ измеряли площадь поперечного сечения фолликулов, коллоида и фолликулярного эпителия; внешний и внутренний диаметры фолликулов; высоту фолликулярного эпителия. Подсчитывали среднее количество тироцитов в фолликулах. Определяли фолликулярно-коллоидный индекс, индекс накопления коллоида и стереологический индекс резорбции. С использованием метода наложения точечных морфометрических сеток вычисляли относительную площадь соединительной ткани, паренхимы железы

и определяли стромально-паренхиматозный индекс (отношение относительной площади стромы к относительной площади паренхимы железы). Измеряли толщину прослоек междольковой, междольковой и межфолликулярной соединительной ткани [11]. Морфометрические исследования структуры ЩЖ у каждой крысы проводили в 10 полях зрения микроскопа, а число измерений для каждого параметра составляло около 100. Большинство измерений железы проводили при увеличении микроскопа в 200 раз. Лишь измерение толщины межфолликулярной соединительной ткани осуществляли при увеличении в 800 раз.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами вариационной статистики с помощью компьютерной программы Statistica 6.0. Нормальность распределения цифровых массивов проверяли, используя критерий Хи-квадрат Пирсона. Для оценки коэффициента различий разницы между контрольной и подопытной группой использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

ЩЖ как трёх-, так и пятнадцатимесячных крыс, получавших метионин, сохраняла нормальную структуру с четким делением на центральную и периферическую зону. Фолликулы ЩЖ были разной величины и имели овальную и удлинённую форму. Фолликулы мелкого и среднего размера локализовались преимущественно в центральной части железы, а большого размера — по периферии. Коллоид фолликулов ЩЖ интактных животных был умеренной или высокой плотности и содержал небольшое количество резорбционных вакуолей. Коллоид фолликулов ЩЖ подопытных животных был умеренной плотности, часто имел пенный характер из-за наличия многочисленных резорбционных вакуолей, что свидетельствовало о высвобождении из них гормонов. На рисунке представлены микрофотографии ЩЖ пятнадцатимесячных крыс при разном увеличении.

Выявлены морфологические различия в структуре ЩЖ контрольных крыс разного возраста. Размеры

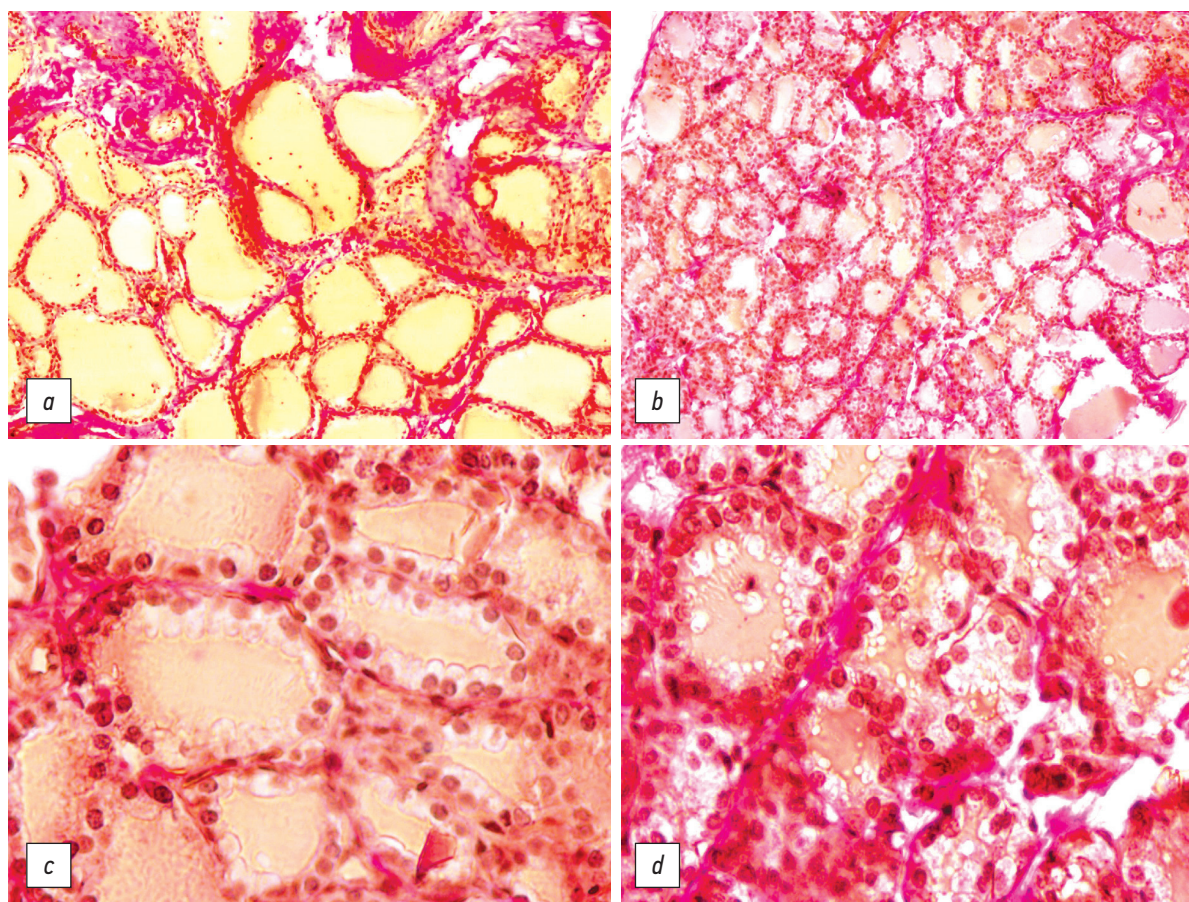


Рис. Микрофотография щитовидной железы контрольной крысы (*a* — ув. 200, *c* — ув. 800) и крысы, получавшей метионин (*b* — ув. 200, *d* — ув. 800). Окраска по Ван-Гизону.

Fig. Micrograph of the thyroid gland of a control rat (*a* — magn. by 200, *c* — magn. by 800) and a rat treated with methionine (*b* — magn. by 200, *d* — magn. by 800). Van Gieson's staining.

фолликулов в ЩЖ у пятнадцатимесечных крыс были меньше по сравнению с показателями у трехмесячных (средняя площадь — на 18%, средний внешний диаметр — на 15%), средний внутренний диаметр фолликулов был больше (на 21%), фолликулярно-коллоидный индекс меньше (на 13%) и стереологический индекс резорбции (на 18%), индекс накопления коллоида больше (на 15%), а также несколько больше — средняя относительная площадь стромы (таблица). Такой характер различий основных морфометрических показателей ЩЖ молодых и взрослых крыс соответствует общей закономерности снижения функциональной активности железы с возрастом.

У пятнадцатимесечных животных, получавших метионин, наблюдалось увеличение средней относительной площади паренхимы ЩЖ на 13%, по сравнению с контролем. У трехмесячных подопытных крыс этот показатель оставался близок к контрольному значению. Средняя площадь поперечного сечения фолликулов и коллоида ЩЖ у подопытных крыс трехмесячного возраста была статистически значимо меньше, чем в контроле на 14 и 29%, а у пятнадцатимесечных животных — на 21 и 40% соответственно. Средний внешний диаметр

фолликулов ЩЖ был статистически значимо меньше (на 17%) лишь у взрослых крыс подопытной группы. Средний внутренний диаметр фолликулов как у трёх-, так и у пятнадцатимесечных животных, получавших метионин, также был меньше — на 12 и 28% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контрольными показателями.

Тироциты подопытных крыс имели кубическую и призматическую форму. После введения метионина их высота имела отчётливо выраженную тенденцию к увеличению (таблица).

Фолликулярно-коллоидный индекс (отношение площади поперечного сечения фолликулярного эпителия к площади коллоида) в ЩЖ подопытных крыс был статистически значимо больше: на 42% — у трёхмесячных и на 67% — у пятнадцатимесечных крыс сравнительно с контролем. При этом средний индекс накопления коллоида (отношение внутреннего диаметра фолликула к двойной высоте фолликулярного эпителия), наоборот, был статистически значимо меньше на 20% (у молодых крыс) и на 31% (у взрослых крыс) по сравнению с контролем. Стереологический индекс резорбции у молодых подопытных крыс имел тенденцию к увеличению — на 9%, а у взрослых животных был

Таблица. Морфометрические показатели щитовидной железы ($n=12$, $M \pm m$)

Table 1. Morphometric parameters of the thyroid gland ($n=12$, $M \pm m$)

Показатели	Трёхмесячные крысы		Пятнадцатимесечные крысы	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Паренхима				
Относительная площадь, %	71,0 $\pm$ 2,4	72,8 $\pm$ 1,5	66,9 $\pm$ 2,1	75,7 $\pm$ 0,8*
Площадь, мкм^2 :				
— фолликула;	3138 $\pm$ 126	2707 $\pm$ 80*	3706 $\pm$ 180**	2922 $\pm$ 162*
— коллоида;	1553 $\pm$ 59	1104 $\pm$ 54*	1965 $\pm$ 103**	1175 $\pm$ 37*
— фолликулярного эпителия.	1585 $\pm$ 92	1603 $\pm$ 48	1741 $\pm$ 90	1747 $\pm$ 61
Диаметр фолликула, мкм :				
— внешний;	57,9 $\pm$ 1,9	55,8 $\pm$ 1,7	66,7 $\pm$ 2,4**	55,3 $\pm$ 2,17*
— внутренний.	36,6 $\pm$ 1,2	32,3 $\pm$ 1,7*	44,2 $\pm$ 2,1**	31,8 $\pm$ 1,76*
Высота тироцитов, мкм	10,7 $\pm$ 0,4	11,8 $\pm$ 0,1	11,3 $\pm$ 0,4	11,8 $\pm$ 0,4
Фолликулярно-коллоидный индекс	1,02 $\pm$ 0,03	1,45 $\pm$ 0,08*	0,89 $\pm$ 0,04**	1,49 $\pm$ 0,11*
Индекс накопления коллоида	1,71 $\pm$ 0,08	1,37 $\pm$ 0,08*	1,96 $\pm$ 0,07**	1,35 $\pm$ 0,08*
Стереологический индекс резорбции	0,110 $\pm$ 0,003	0,120 $\pm$ 0,009	0,090 $\pm$ 0,005**	0,130 $\pm$ 0,006*
Количество тироцитов в фолликуле, <i>шт.</i>	22,5 $\pm$ 0,1	21,4 $\pm$ 0,4	24,5 $\pm$ 0,9	22,40 $\pm$ 0,69
Соединительная ткань				
Относительная площадь, %	29,0 $\pm$ 1,4	27,2 $\pm$ 1,0	33,1 $\pm$ 1,9	24,3 $\pm$ 0,8*
Стромально-паренхиматозный индекс				
Ширина прослоек соединительной ткани, мкм :	0,41 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,02	0,49 $\pm$ 0,09	0,32 $\pm$ 0,05*
— междолевой;	26,0 $\pm$ 1,6	20,9 $\pm$ 1,5*	27,5 $\pm$ 1,3	21,8 $\pm$ 1,0*
— междольковой;	12,9 $\pm$ 1,0	11,1 $\pm$ 0,7*	12,9 $\pm$ 0,7	8,6 $\pm$ 0,4*
— межфолликулярной	1,69 $\pm$ 0,11	1,32 $\pm$ 0,07*	1,69 $\pm$ 0,07	1,26 $\pm$ 0,06*

Примечание. * $p < 0,05$ — достоверность различий по сравнению с контролем. ** $p < 0,05$ — достоверность различий по сравнению с контролем трёхмесячных крыс.

статистически значимо больше по сравнению с контролем на 44% (таблица).

У подопытных крыс обеих возрастных групп наблюдалась тенденция к увеличению количества интерфолликулярных островков, что можно рассматривать как признак активации процессов регенерации ЩЖ.

В ЩЖ пятнадцатимесячных крыс, получавших метионин, выявлялось статистически значимое уменьшение средней относительной площади стромы и стромально-паренхиматозного индекса на 27 и 35% соответственно по сравнению с контролем. У трёхмесячных подопытных животных наблюдалась лишь тенденция к снижению данных показателей. Средняя толщина прослоек соединительной ткани (СТ) в ЩЖ была меньше как у трёх-, так и у пятнадцатимесячных (в большей степени) крыс подопытной группы. В ЩЖ молодых крыс после введения метионина выявлено статистически значимое уменьшение средней толщины междольевой СТ на 20%, междольковой СТ — на 14% и межфолликулярной СТ — на 22% сравнительно с контролем. В ЩЖ пятнадцатимесячных подопытных животных наблюдалось статистически значимое уменьшение средней толщины прослоек междольевой, междольковой и межфолликулярной СТ на 21, 33 и 25% соответственно (таблица).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты наших исследований показали, что 21-суточное введение метионина (в дозе 250 мг/кг) приводит к однонаправленным изменениям в структуре ЩЖ как трёх-, так и пятнадцатимесячных крыс. Однако у крыс старшего возраста эти изменения были выражены в большей степени. В ЩЖ подопытных крыс наблюдалось уменьшение размеров фолликулов, их коллоида и внутреннего диаметра. Это может свидетельствовать о повышении активности железы и в первую очередь активации высвобождения гормонов в кровеносное русло. Как известно, в малоактивном состоянии структура ЩЖ представлена преимущественно фолликулами большого размера, что обусловлено депонированием гормонов в середине фолликула и увеличением объёма коллоида [11]. В наших исследованиях тироциты подопытных крыс часто имели призматическую форму, что также свидетельствует об активной резорбции тиреоглобулина и секреции гормонов в кровеносное русло [13]. Однако увеличение относительной площади паренхимы ЩЖ наблюдалось лишь у пятнадцатимесячных подопытных животных.

В ЩЖ крыс, получавших метионин, нарастал фолликулярно-коллоидный индекс и стереологический индекс резорбции, а также снижался индекс накопления коллоида,

что свидетельствует об усилении секреции тиреоидных гормонов в кровеносное русло. У подопытных животных наблюдалась тенденция к увеличению числа интерфолликулярных островков, что можно рассматривать как активацию фолликулогенеза. Установлено, что интерфолликулярные островки содержат малодифференцированные клетки, которые могут быть источником для формирования новых фолликулов [11].

У пятнадцатимесячных подопытных крыс выявлялось статистически значимое уменьшение относительной площади стромы в ЩЖ и стромально-паренхиматозного индекса. Примечателен тот факт, что уменьшение толщины прослоек междольевой, междольковой и межфолликулярной СТ наблюдалось в обеих возрастных группах крыс, получавших метионин. Уменьшение относительной площади СТ и, соответственно, увеличение относительной доли паренхиматозных элементов в ЩЖ может рассматриваться как один из признаков активации её функции и повышения регенераторных возможностей. Очевидно, что уменьшение толщины прослоек и массы соединительной ткани ЩЖ в целом улучшает межфолликулярный обмен веществ и проникновение гормонов в кровь [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, введение в стандартный рацион питания крыс разного возраста дополнительного количества метионина (в дозе 250 мг/кг) приводило к однотипным по характеру морфологическим изменениям ЩЖ. Характер и степень выраженности изменений основных гистоморфометрических показателей ЩЖ крыс, получавших метионин, указывали на наличие признаков повышения её активности. Об этом свидетельствовало уменьшение линейных размеров фолликулов, их внутреннего диаметра, индекса накопления коллоида и относительной площади стромы (у пятнадцатимесячных крыс), а также увеличение фолликулярно-коллоидного индекса и стереологического индекса резорбции, относительной площади паренхимы железы и количества интерфолликулярных островков. Однако выраженность таких изменений в паренхиме ЩЖ пятнадцатимесячных подопытных крыс проявлялась в большей степени, чем у молодых животных. Полученные данные могут представлять интерес для практической медицины при решении вопроса о назначении серосодержащих препаратов людям с пониженной функцией ЩЖ. Мы предполагаем, что введение дополнительного количества метионина наиболее целесообразно рекомендовать людям зрелого возраста при наличии признаков возрастного снижения активности железы.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Института физиологии имени А.А. Богомольца НАН Украины № 0116U004472.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: концепция и дизайн исследования — М.И. Левашов; сбор и обработка материала — Р.В. Янко;

статистическая обработка данных — Р.В. Янко; анализ и интерпретация данных — Р.В. Янко; написание и редактирование текста — Р.В. Янко, М.И. Левашов.

Funding source. The work was carried out within the framework of the state task of the Bogomolets Institute of Physiology NAS of Ukraine No. 0116U004472.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Author contribution. All authors confirm the compliance of their authorship, according to international ICMJE criteria (all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published). The concept and design of the study — M.I. Levashov; collection and processing of material — R.V. Yanko; statistical data processing — R.V. Yanko; data analysis and interpretation — R.V. Yanko; writing and editing the text — R.V. Yanko, M.I. Levashov.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vanderpump M.P. The epidemiology of thyroid disease // *Br Med Bull.* 2011. Vol. 99. P. 39–51. doi: 10.1093/bmb/ldr030
2. Toohey J.I. Vitamin B12 and methionine synthesis: a critical review. Is nature's most beautiful cofactor misunderstood? // *Biofactors.* 2006. Vol. 26, N 1. P. 45–57. doi: 10.1002/biof.5520260105
3. Wan J., Ding X., Wang J., et al. Dietary methionine source and level affect hepatic sulfur amino acid metabolism of broiler breeder hens // *Anim Sci J.* 2017. Vol. 88, N 12. P. 2016–2024. doi: 10.1111/asj.12882
4. Avci G., Birdane Y.O., Özdemir M., et al. Effects of sulfur supplementation on thyroid hormones in Angora Goats fed with a high nitrate diet // *Kocatepe Vet J.* 2018. Vol. 11, N 3. P. 203–207. doi: 10.30607/kvj.397352
5. Stefl J. Vliv elementární síry na cinnost štítné žlázy // *Cesk Fysiol.* 1959. Vol. 8, N 3. P. 251.
6. Янко Р.В. Вплив метіоніну на морфологічні зміни щитоподібної залози щурів // *Ендокринологія.* 2019. Т. 24, № 1. С. 41–45. doi: 10.31793/1680-1466.2019.24-1.41
7. Yang Y., Zhang J., Wu G., et al. Dietary methionine restriction regulated energy and protein homeostasis by improving thyroid function in high fat diet mice // *Food Funct.* 2018. Vol. 9, N 7. P. 3718–3731. doi: 10.1039/c8fo00685g
8. Carew L.B., McMurtry J.P., Alster F.A. Effects of methionine deficiencies on plasma levels of thyroid hormones, insulin-like growth factors-I and -II, liver and body weights, and feed intake in growing chickens // *Poult Sci.* 2003. Vol. 82, N 12. P. 1932–1938. doi: 10.1093/ps/82.12.1932
9. Zhang J., Wang Y., Guo H., et al. The effects of Methionine restriction on thyroid hormones and mitochondrial changes in skeletal muscle // *FASEB J.* 2017. Vol. 31, suppl. 1. P. 794.15. doi: 10.1096/fasebj.31.1_supplement.794.15
10. Leng O., Razvi S. Hypothyroidism in the older population // *Thyroid Res.* 2019. Vol. 12. P. 2. doi: 10.1186/s13044-019-0063-3
11. Никишин Д.В. Морфология и методы исследования щитовидной железы: методические рекомендации. Пенза: ПГУ, 2008. 64 с.
12. Arem R. The Thyroid Solution: A Revolutionary Mind-Body Program That Will Help You. New York: Atria books, 2012. 400 p.
13. Юлдашева Ф.З., Юлдашев А.Ю., Исмаилов С.И., Рашитов М.М. Ультроструктурная характеристика тиреоцитов при гипо- и гиперфункции щитовидной железы // *Клиническая тиреоидология.* 2011. Т. 35, № 3. С. 132–135.
14. Ludwig K.S. Beiträge zur Schilddrüsenstruktur: I. Die Anordnung des Bindegewebes // *Acta Anat (Basel).* 1952. Vol. 15, N 3. P. 300–308.

REFERENCES

1. Vanderpump M.P. The epidemiology of thyroid disease. *Br Med Bull.* 2011;99:39–51. doi: 10.1093/bmb/ldr030
2. Toohey J.I. Vitamin B12 and methionine synthesis: a critical review. Is nature's most beautiful cofactor misunderstood? *Biofactors.* 2006;26(1):45–57. doi: 10.1002/biof.5520260105
3. Wan J., Ding X., Wang J., et al. Dietary methionine source and level affect hepatic sulfur amino acid metabolism of broiler breeder hens. *Anim Sci J.* 2017;88(12):2016–2024. doi: 10.1111/asj.12882
4. Avci G., Birdane Y.O., Özdemir M., et al. Effects of sulfur supplementation on thyroid hormones in Angora Goats fed with a high nitrate diet. *Kocatepe Vet J.* 2018;11(3):203–207. doi: 10.30607/kvj.397352
5. Stefl J. Vliv elementární síry na cinnost štítné žlázy. *Cesk Fysiol.* 1959;8(3):251.
6. Yanko R.V. The effect of methionine on the morphological changes of the thyroid gland of rats. *Endokrynologia.* 2019;24(1):41–45. (In Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2019.24-1.41
7. Yang Y., Zhang J., Wu G., et al. Dietary methionine restriction regulated energy and protein homeostasis by improving thyroid function in high fat diet mice. *Food Funct.* 2018;9(7):3718–3731. doi: 10.1039/c8fo00685g
8. Carew L.B., McMurtry J.P., Alster F.A. Effects of methionine deficiencies on plasma levels of thyroid hormones, insulin-like growth factors-I and -II, liver and body weights, and feed intake in growing chickens. *Poult Sci.* 2003;82(12):1932–1938. doi: 10.1093/ps/82.12.1932
9. Zhang J., Wang Y., Guo H., et al. The effects of Methionine restriction on thyroid hormones and mitochondrial changes in skeletal muscle. *FASEB J.* 2017;31(S1):794.15. doi: 10.1096/fasebj.31.1_supplement.794.15

10. Leng O, Razvi S. Hypothyroidism in the older population. *Thyroid Res.* 2019;12:2. doi: 10.1186/s13044-019-0063-3
11. Nikishin DV. *Morphology and research methods of the thyroid gland: guidelines.* Penza: PSU; 2008. 64 p. (In Russ).
12. Arem R. *The Thyroid Solution: A Revolutionary Mind-Body Program That Will Help You.* New York: Atria books; 2012. 400 p.

ОБ АВТОРАХ

* **Янко Роман Васильевич**, к.б.н.;
адрес: 01024, Украина, г. Киев, ул. Богомольца, д. 4;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0397-7517>;
e-mail: biolag@ukr.net;
eLibrary SPIN: 7701-2184

Левашов Михаил Иванович, д.м.н.;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1354-2047>;
e-mail: levashov@biph.kiev.ua;
eLibrary SPIN: 7467-9830

13. Yuldasheva FZ, Yuldashev AYu, Ismailov SI, Rashitov MM. Ultra-structural description of thyreocytes in thyroid hypo- and hyperactivity. *Clinical Thyroidology.* 2011;35(3):132–135. (In Russ).
14. Ludwig KS. Beiträge zur Schilddrüsenstruktur: I. Die Anordnung des Bindegewebes. *Acta Anat (Basel).* 1952;15(3):300–308.

AUTHOR INFO

Roman V. Yanko, Cand. Sci. (Biol.);
address: 4, Bogomoltsa St., Kyiv, 01024, Ukraine;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0397-7517>;
e-mail: biolag@ukr.net;
eLibrary SPIN: 7701-2184

Mikhail I. Levashov, Dr. Sci. (Med);
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1354-2047>;
e-mail: levashov@biph.kiev.ua;
eLibrary SPIN: 7467-9830

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110834>

Ультраструктура клеток коры головного мозга крыс в норме и при экспериментальном отравлении диоксином

М.М. Сальникова^{1, 2}, А.И. Яковлева³, В.Р. Саитов^{1, 2}, А.И. Голубев¹¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация² Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Российская Федерация³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. В настоящее время не существует разработанных средств терапии при диоксиновой интоксикации: лечение носит лишь симптоматический характер, вследствие чего различные проявления воздействия диоксина на биологические объекты животного происхождения активно изучаются.

Цель — изучить ультраструктуру коры головного мозга крыс в норме и при экспериментальном отравлении диоксином.

Материалы и методы. Исследована ультраструктура клеток пирамидного слоя коры головного мозга крыс контрольной и опытных групп, получавших хроническое отравление малыми дозами диоксина (2,3,7,8-тетрахлордибензо-пара-диоксин). Проведён морфометрический анализ с определением длины синаптических щелей, количества синапсов на единицу площади, толщины миелиновой оболочки внутрикорковых нервных волокон и числа оборотов миелина.

Результаты. Как на светооптическом, так и на ультраструктурном уровне патология нейронов характеризуется уменьшением ядер, гибелью клеток, истончением миелиновых оболочек и демиелинизацией. Доза отравления коррелирует со степенью деструкции нейронов: с увеличением дозы диоксина изменения становятся существеннее. Количество самих синаптических контактов снижается, но при этом происходит значимое увеличение их средней длины.

Выводы. Процессы демиелинизации, нарушения клеточного дыхания и деструкции синаптических контактов свидетельствуют о способности диоксина опосредованно вызывать ускоренное старение нейронов и их гибель (апоптоз).

Ключевые слова: крысы; нейроны; диоксин; синапсы; демиелинизация; морфометрический анализ;

Как цитировать:

Сальникова М.М., Яковлева А.И., Саитов В.Р., Голубев А.И. Ультраструктура клеток коры головного мозга крыс в норме и при экспериментальном отравлении диоксином // Морфология. 2021. Т. 159, № 3. С. 107–115. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110834>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110834>

Ultrastructure of rat cerebral cortex cells in normal and experimental dioxin poisoning

Marina M. Salnikova^{1, 2}, Anastasia I. Yakovleva³, Vadim R. Saitov^{1, 2}, Anatoliy I. Golubev¹

¹ Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russian Federation;

² Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation;

³ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: Currently, the treatment of dioxin intoxication is only symptomatic as there are no developed methods of therapy for it. Therefore, various manifestations of the effect of dioxin on biological objects of animal origin are being actively studied.

AIM: The study of the ultrastructure of the cerebral cortex of rats in normal and experimental poisoning with dioxin.

MATERIALS AND METHODS: We studied the ultrastructure of the cells of the pyramidal layer of the cerebral cortex of rats of the control and experimental groups that were chronically exposed to small doses of dioxin (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-pa-ra-dioxin or TCDD). Morphometric analysis was carried out to determine the length of synaptic clefts, the number of synapses per unit area, the thickness of the myelin layer of the processes, and the number of wrappers of myelin sheaths.

RESULTS: The pathology of neurons was observed both at the optical and ultrastructural levels. It was characterized by a decrease in nuclei, cell death, thinning of myelin sheaths, and demyelination. There was a significant positive correlation between dose of poisoning and the degree of destruction of neurons. The number of synaptic contacts decreased with an increase in their average length.

CONCLUSIONS: Demyelination, impaired cellular respiration, and destruction of synaptic contacts indicated the ability of dioxin to indirectly cause accelerated aging of neurons and their death (apoptosis).

Keywords: rats; neurons; dioxin; synapses; demyelination; morphometric analysis.

To cite this article:

Salnikova MM, Yakovleva AI, Saitov VR, Golubev AI. Ultrastructure of rat cerebral cortex cells in normal and experimental dioxin poisoning. *Morphology*. 2021;159(3):107–115. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110834>

ВВЕДЕНИЕ

Начиная с конца 1970-х гг. стала хорошо известна токсическая природа диоксинов, а также их способность вызывать изменения на клеточном уровне. В настоящее время не существует разработанных средств терапии при диоксиновой интоксикации, лечение носит лишь симптоматический характер, вследствие чего различные проявления воздействия диоксина на биологические объекты животного происхождения активно изучаются.

Незначительное количество исследований ультраструктурной организации при интоксикации 2,3,7,8-тетрахлордибензо-пара-диоксином (далее — диоксин) рассматривают изменения в ряде органов [1, 2]. Между тем известно, что в нервной ткани содержится большое количество сложных липидов, а диоксины являются липофильными молекулами [3] и, соответственно, должны хорошо проникать в структуры нервной системы и, возможно, менять их архитектуру. Некоторые данные свидетельствуют о том, что клетки мозга даже более чувствительны к воздействию диоксина, чем гепатоциты [4].

Цель данной работы — выявление изменений ультраструктуры клеток коры головного мозга крыс после воздействия диоксина в малых дозах ($1/800$ и $1/400$ LD₅₀) с использованием светооптических и электронно-микроскопических методов, а также анализа морфометрических показателей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на белых крысах линии Wistar массой 180–200 г. Во время проведения эксперимента всех крыс содержали в стандартных условиях вивария при постоянной температуре (20–22 °C) и влажности. Крыс поделили на три группы, в каждой по 3 особи. Первая группа животных служила биологическим контролем, и ей давали растительное масло, кроме ежедневного рациона. Вторая получала хроническую затравку масляным раствором диоксина в дозе $1/800$ LD₅₀ (0,025 мкг на кг массы тела), третья — в дозе $1/400$ LD₅₀ (0,05 мкг на кг массы тела), применяли диоксин, изготовленный ПО «Химпром» (Уфа). Забор материала производился через 40 дней после начала эксперимента. Крыс выводили из эксперимента с помощью эвтаназийной декапитации в соответствии с Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных Хельсинкской декларации 1975 г. и её пересмотренным вариантом 2000 г.

Электронная и световая микроскопия

Использовали кусочки коры головного мозга размером до 1 мм³. Подготовку отобранного материала проводили по классической методике. Образцы фиксировали в 1% растворе глутарового альдегида (Sigma-Aldrich) на 0,1 М фосфатном буфере 1 сут в холодильнике.

Постфиксацию проводили в 2% растворе четырёхокиси осмия (Московский химзавод, Москва) на том же буфере 2 ч. Далее проводили дегидратацию материала в спиртах повышающейся концентрации и ацетоне. После обезвоживания кусочки ткани заключали в смесь (Epon 812, DDSA, MNA) эпоксидных смол (EMS) и ацетона для постепенной пропитки. После полимеризации смол готовили полутонкие срезы толщиной 2 мкм. Препараты окрашивали метиленовым синим. Просматривали срезы через световой микроскоп Zeiss Axio Imager M2 (Carl Zeiss) и получали цифровые изображения полутонких срезов. Ультратонкие срезы (толщиной 70 нм) получали на ультрамикротоме Reichert-Jung Ultracut-E 6524-01. Срезы монтировали на электронно-микроскопические сетки и окрашивали уранилацетатом (1,5 ч при 37 °C) и цитратом свинца (2 мин). Полученные сетки со срезами изучали в поле зрения электронного микроскопа JEOL JEM 100 CX-II (Jeol, Япония) с ускоряющим напряжением 80 кВ. Съёмку проводили на плёнку (Agfa Camera Ce Orthochromatic Line Film) и производили оцифровку негативов на сканере Epson Perfection 4990 Photo с разрешением 800 dpi.

Морфометрия

Морфометрический анализ проводился в программе AxioVision Rel. 4.8.2 (Carl Zeiss). На полутонких срезах подсчитывали число нейронов на единицу площади, площадь ядер нервных клеток. На ультратонких срезах определяли длину синаптической щели, число синапсов на единицу площади, толщину миелиновой оболочки нервных волокон и число оборотов миелина.

Статистическая обработка

Обработка полученных результатов проведена в программах Microsoft Excel и PAST с помощью линейного коэффициента корреляции Пирсона и t-критерия Стьюдента для независимых выборок; различия считались значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Световая микроскопия

Проведена световая микроскопия пирамидного слоя коры головного мозга крыс. Нейроны крупные. Ядра клеток крупные и округлые, занимают практически весь объём перикариона. В большинстве клеток встречается деспирализованная форма хроматина — эухроматин, что обусловлено высокой функциональной активностью нейронов. Внутри ядер находятся плотные ядрышки. В составе глии регистрируются мелкие клетки звёздчатой формы, являющиеся, вероятно, астроцитами.

Пирамидный слой коры головного мозга крыс, получавших в течение 40 дней хроническую затравку диоксином в дозах $1/800$ LD₅₀ и $1/400$ LD₅₀, отличается от такового

в препаратах мозга крыс контрольной группы наличием тёмноокрашенных клеток глии и увеличением периваскулярного пространства, обнаруживается периваскулярный отёк. По морфометрическим показателям наблюдаются изменения: количество нервных клеток на единицу площади, у получавших диоксин в обеих дозах крыс, в сравнении с биологическим контролем, достоверно уменьшилось — на 38,2 и 41,7% соответственно. У животных, получавших диоксин в дозе 1/400 LD₅₀, регистрируется уменьшение размеров ядер нейронов на 24,5% (таблица).

Электронная микроскопия

На ультратонких срезах пирамидного слоя коры головного мозга крыс группы биологического контроля были выявлены нейроны и клетки глии — астроциты, олигодендроциты и микроглиоциты (рис.). Нейроны имеют крупные округлые ядра, небольшой участок цитоплазмы по периферии тела нейрона и большое количество отростков. В ядрах хроматин преимущественно деконденсирован, что подтверждает активное функциональное состояние нервных клеток (рис. *b*). Ядрышки округлые, высокой электронной плотности. В них чётко определяются фибриллярные центры и плотный фибриллярный компонент, гранулярный компонент располагается по периферии ядрышка. Некоторые ядра имеют хорошо различимые кластеры интерхроматиновых гранул (рис. *b*), наличие которых также подтверждает высокую синтетическую активность, происходящую в нейронах. В кариолемме хорошо заметны ядерные поры в большом количестве. Перинуклеарное пространство равномерно по всей протяжённости оболочки ядра. В перикарионе сильно развита шероховатая эндоплазматическая сеть (ЭПС) и много отдельных рибосом. Митохондрии в клетках коры головного мозга крыс различной формы. Матрикс митохондрий электронно-плотный, кристы встречаются в большом количестве, они вытянутые, пластинчатые, с равномерным электронно-прозрачным межмембранным пространством (рис. *a*).

В коре головного мозга крыс контрольной группы регистрируется большое количество мелких синапсов. Синаптических пузырьков в пресинаптическом окончании много, в основном они мелкие, содержимое пузырьков разной электронной плотности, что говорит о присутствии в них различных нейромедиаторов. Средний диаметр синаптических везикул равен 50 нм. Синаптическая щель ровная по всей длине, её средняя ширина варьирует (рис. *a*). В коре головного мозга присутствуют синапсы двух видов: симметричные, в которых отсутствует постсинаптическое уплотнение, и асимметричные, где постсинаптическое уплотнение есть. В основном встречаются асимметричные синапсы.

Среди отростков нервных клеток регистрируется большое количество с миелиновыми оболочками. Аксоны имеют различную толщину миелиновой оболочки. Обороты миелина чётко различимы, их число варьирует. В отростках имеется большое количество элементов цитоскелета, крупных митохондрий с большим числом пластинчатых крист и везикул, являющихся транспортируемыми пузырьками с нейромедиатором (рис. *a*).

Олигодендроциты определяются по цитоплазме высокой электронной плотности и ядру правильной округлой формы. Олигодендроцит образует миелиновые оболочки вокруг нескольких отростков нервных клеток, что хорошо заметно по окружающим его аксонам.

Электронно-микроскопические исследования коры головного мозга крыс, получавших хроническую загрузку диоксином в дозе 1/800 LD₅₀

На ультратонких срезах крыс данной группы встречаются нервные клетки и компоненты глии: астроциты, олигодендроциты и микроглиоциты. Нейроны имеют крупные ядра округлой или овальной формы. Часть ядер имеет конденсированный гетерохроматин, расположенный по периферии небольшими глыбками. Как и в контроле, ядрышки плотные, округлые, в них хорошо различаются три основных компонента.

Таблица. Морфометрические показатели клеток коры головного мозга крыс после хронической загрузки диоксином в разных дозах, $M \pm SD$

Table. Morphometric parameters of cerebral cortex cells of rats after long-lasting dioxin intoxication at different doses, $M \pm SD$

Показатель	Контрольная группа	Опытные группы	
		1/800 LD ₅₀	1/400 LD ₅₀
Число нейронов на 1 мм ²	156,6±7,4	96,8±1,8*	91,3±5,6*
Средняя площадь ядра, мкм ²	73,3±3,4	70,3±4,9	55,4±5,9*
Длина синаптического контакта, нм	343,6±16,9	514,9±24,2*	458,2±32,9*
Число синапсов на площадь в 16 мкм ²	2,7±0,3	2,3±0,3*	2,1±0,4*
Толщина миелина, нм	164,2±24,5	68,4±7,6*	58,9±5,8*
Число оборотов миелина	6,6±0,5	5,8±0,3*	4,6±0,3*

Примечание. * различия значимы при $p < 0,05$.

Note. * Differences are significant on $p < 0,05$.

Перинуклеарное пространство равномерно по всей длине. Кариоплазма просветлённая. Цитоплазма нейронов содержит много рибосом, развитую шероховатую ЭПС. Перикарионы многих нейронов имеют электронно-плотные структуры — телолизосомы, содержащие пигмент липофусцин.

В пространстве между телами нейронов имеются многочисленные отростки, среди них визуальны меньше миелинизированных. В отростках заметны элементы цитоскелета и митохондрии. Многие митохондрии набухшие, имеют сильно просветлённый матрикс и малое количество крист. В некоторых митохондриях кристы разрушены

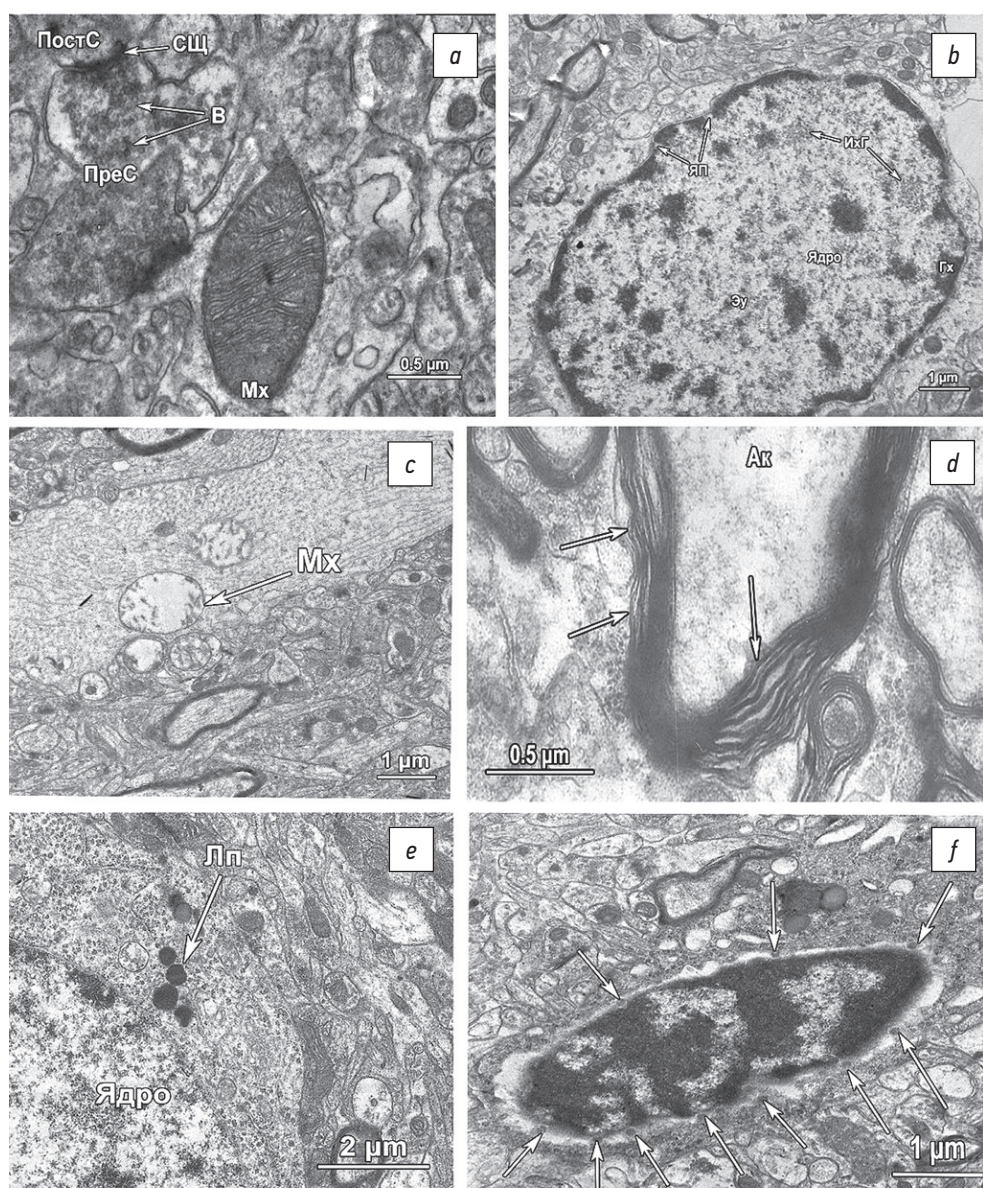


Рис. *a, b* — участки коры головного мозга крысы контрольной группы; *c, d* — участки коры головного мозга крысы, получавшей хроническую затравку диоксином в дозе 1/800 LD₅₀ (стрелками показаны участки расслоения миелина); *e, f* — участки коры головного мозга крысы, получавшей хроническую затравку диоксином в дозе 1/400 LD₅₀ (стрелками указаны фрагменты хроматина, покидающие ядро микроглии), где Мх — митохондрия, ПреС — пресинаптическое окончание, ПостС — постсинаптическое окончание, В — синаптические везикулы, СЩ — синаптическая щель, Гх — гетерохроматин, ИХГ — интерхроматиновые гранулы, Эу — эухроматин, ЯП — ядерные поры, Ак — аксон, Лп — телолизосомы с липофусцином.

Fig. *a, b* — segments of the cerebral cortex of a control group rat; *c, d* — segments of the cerebral cortex of a rat that received long-lasting dioxin intoxication at a dose of 1/800 LD₅₀ (arrows indicate areas of myelin stratification); *e, f* — segments of the cerebral cortex of a rat that received long-lasting dioxin intoxication at a dose of 1/400 LD₅₀ (arrows indicate chromatin fragments leaving the microglia nucleus), where Мх — mitochondrion, ПреС — presynaptic terminal, ПостС — postsynaptic terminal, В — synaptic vesicles, SC — synaptic cleft, Hc — heterochromatin, IcG — interchromatin granules, EU — euchromatin, NP — nuclear pores, Ax — axon, Lp — telolysosomes with lipofuscin.

(рис. с), и для таких клеток характерно нарушение энергетического баланса.

Между нейронами регистрируются синапсы, в основном асимметричные, их число меньше на 14,8% относительно контрольной группы. Синаптическая щель ровная, шириной около 50 нм, её средняя протяжённость больше, чем у контрольной группы на 50%. Корреляционный анализ позволил установить, что между числом синапсов и их длиной была очень высокая отрицательная связь ($r=-0,76$). В пресинаптических окончаниях обнаруживалось множество синаптических везикул диаметром около 50 нм. Миелинизированные отростки различных размеров, число оборотов миелина уменьшается на 12,1% в сравнении с контролем, толщина миелинового слоя меньше на 58,3%. Около половины исследованных срезов содержат отростки с очагами расслоения миелина (рис. d).

Микроглиоциты определяются по амёбоидной форме, характерной электронно-плотной цитоплазме, ядру резко неправильной формы с кариоплазмой высокой электронной плотности. В цитоплазме микроглиоцитов содержится много лизосом и пероксисом, митохондрий и развитый комплекс Гольджи. Их строение не имеет резких отличий от контрольной группы.

В коре мозга крыс экспериментальной группы ядра олигодендроцитов имеют вытянутую форму с небольшими инвагинациями. Их цитоплазма, как и в коре мозга крыс контрольной группы, характеризуется высокой электронной плотностью. Каналы ЭПС и перинуклеарное пространство расширены, видны отшнуровывающиеся от них вакуолеподобные структуры. Аксоны с миелиновыми оболочками вокруг олигодендроцитов меньше по сравнению с контрольными животными.

Электронно-микроскопические исследования клеток коры головного мозга крыс, получавших хроническую заправку диоксином в дозе 1/400 LD50

Результаты исследований демонстрируют заметные отличия от контрольной группы. Ядра нейронов овально-округлые, занимают около половины объёма перикариона. Хроматин встречается как в деконденсированном состоянии, так и в форме гетерохроматина, располагающегося по периметру ядра. Ядрышки регистрируются не во всех нейронах. Подавляющая часть нервных клеток содержит телолизосомы с липофусцином (рис. e). Каналы ЭПС и цистерны комплекса Гольджи сильно расширены, митохондрии набухшие, имеют просветлённый матрикс и малое количество крист, некоторые из них разрушены, перинуклеарное пространство местами расширено, регистрируются электронно-плотные пероксисомы.

Количество элементов цитоскелета уменьшалось, происходила значительная демиелинизация аксонов. По сравнению с контрольной группой толщина миелиновой оболочки снизилась на 64,1%, а число её оборотов — на 40,3%. Часто встречались немиелинизированные участки аксонов.

Синапсы на микрофотографиях встречаются значительно реже, чаще асимметричные, их число сокращается на 22,2%. Преобладают удлинённые синапсы, которые на 33,4% протяжённее, чем в контрольной группе. Между числом синапсов и их длиной была высокая отрицательная связь ($r=-0,73$). Ширина синаптической щели не отличается от таковой в контроле и составляет около 50 нм. Средний диаметр синаптических пузырьков был таким же, как в другой экспериментальной группе. Обобщённые данные приведены в таблице.

Состояние клеток глии также показывает развитие процесса деструкции. Она находит отражение в конденсации хроматина и расположении его пристеночно, вплоть до пикнотического состояния. Заметны фрагменты хроматина, покидающие ядро (рис. f). В цитоплазме олигодендроцитов расширены каналы ЭПС, образуются вакуолеподобные структуры. Микроглиоциты содержат крупные электронно-плотные лизосомы и фагосомы с фрагментами разрушающегося миелина.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуя субхроническое воздействие диоксида на крысах, J.P. Vuers и соавт. обнаружили, что диоксин в организме приводит к значительному повышению концентрации биогенных аминов и супероксидного аниона в разных отделах головного мозга [5]. Супероксидный анион, относясь к свободным радикалам, является основным агентом, под действием которого происходит перекисное окисление липидов мембран, которое является основной причиной возникновения нейротоксического эффекта, что было неоднократно показано в исследованиях на грызунах [4, 6].

Наши данные согласуются с результатами исследований, отметивших сходные последствия воздействия диоксида на клетки головного мозга. Участки расслоения миелиновых оболочек, а также демиелинизация аксонов обнаруживались в коре головного мозга овец [7] и в гиппокампе крыс [8] после субхронического воздействия диоксида. Интересно отметить, что наши результаты схожи, несмотря на то что доза заправки в нашем исследовании была в 100 раз меньше, чем в работах других авторов [7]. Из этого можно заключить, что диоксины способны вызывать изменения в клетках в сверхмалых концентрациях, и проявления изменений имеют схожую картину, отличаясь степенью деструкции. Также примечателен тот факт, что подобный процесс расслоения миелиновых оболочек наблюдается в мозгу стареющих приматов [9, 10].

Считается, что чрезмерное накопление пигмента липофусцина в лизосомах нервных клеток ведёт к их гибели и атрофии полушарий большого мозга и мозжечка, вызывая нейродегенеративные заболевания — нейрональные липофусцинозы [11]. Согласно данным

последних лет, липофусцин накапливается в нервных клетках в ответ на интоксикацию и является признаком патологии [12]. Другие авторы связывают накопление гранул липофусцина в нервных клетках с механизмом нормализации метаболизма и адаптации к гипоксии — в данном случае липофусцин, как предполагается, выполняет функцию депо кислорода [13]. Эта концепция может быть подтверждена нашими результатами: диоксины вызывают образование свободных радикалов, которые осуществляют перекисное окисление липидов. Это ведёт к разрушению мембран митохондрий (в том числе их крист) и нарушениям в процессах клеточного дыхания, которые приводят к состоянию гипоксии. Мы склонны рассматривать накопление гранул липофусцина как адаптацию нейронов к гипоксии клетки в результате разрушения мембран митохондрий.

Нами была отмечена интересная способность диоксинов влиять на число и протяжённость синаптических контактов. В обеих группах животных, получавших диоксин, отмечалось наличие корреляции между числом синаптических контактов в мозгу и их протяжённостью. Такая особенность была обнаружена в коре головного мозга кроликов, получавших затравку диоксином в дозе $1/200\text{ LD}_{50}$. По результатам морфометрических измерений количество синапсов в опытной группе снижается на 60,2%, а средняя протяжённость синаптической щели увеличивается на 50% [14]. Процесс уменьшения числа синаптических контактов происходит и без участия внешних агентов. Исследования на приматах [10] показали, что префронтальная кора утрачивает порядка 30% синаптических контактов в течение 25 лет старения макаков резусов. Авторы обнаружили корреляцию между утратой синаптических контактов и проявлением когнитивных нарушений. Удлинение синаптических контактов в наших экспериментах при интоксикации диоксином является компенсаторным механизмом к падению числа синапсов.

Таким образом, кора головного мозга крыс, получавших хроническую затравку диоксином в дозах $1/800\text{ LD}_{50}$ и $1/400\text{ LD}_{50}$, показывает наличие развивающейся патологии клетки, которая находит своё отражение в состоянии нейронов и компонентов глии, а также в активации приспособительных механизмов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования клеток коры головного мозга крыс, получавших хроническое отравление диоксином в малых дозах в течение 40 дней, выявили возникновение нарушений как на светооптическом, так и на ультраструктурном уровне. Патология клетки проявляется

в виде уменьшения ядер нейронов, гибели клеток, истончении миелиновых оболочек и демиелинизации. При этом с увеличением дозы затравки изменения становятся деструктивнее. Число синапсов уменьшается при увеличении их средней длины. Однако длина синаптического контакта у крыс, получавших диоксин в большей дозе, увеличивается не столь сильно, как в группе крыс, получавших хроническую затравку диоксином в дозе $1/800\text{ LD}_{50}$, что говорит о неспособности клеток эффективно компенсировать последствия воздействия диоксина в дозе $1/400\text{ LD}_{50}$. В совокупности демиелинизация, нарушение клеточного дыхания и утрата синаптических контактов свидетельствуют о том, что диоксины способны опосредованно вызывать ускоренное старение нервных клеток и их гибель.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: концепция и дизайн исследования — М.М. Сальникова, А.И. Яковлева, А.И. Голубев; сбор и обработка материала — В.Р. Сайтов, М.М. Сальникова, А.И. Яковлева; статистическая обработка данных — А.И. Яковлева, М.М. Сальникова; анализ и интерпретация данных — М.М. Сальникова, А.И. Яковлева; написание текста — М.М. Сальникова, А.И. Яковлева, В.Р. Сайтов.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Author contribution. All authors confirm the compliance of their authorship, according to international ICMJE criteria (all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published). The concept and design of the study — M.M. Salnikova, A.I. Yakovleva, A.I. Golubev; collection and processing of material — V.R. Saitov, M.M. Salnikova, A.I. Yakovlev; statistical data processing — A.I. Yakovleva, M.M. Salnikov; data analysis and interpretation — M.M. Salnikova, A.I. Yakovlev; writing the text — M.M. Salnikova, A.I. Yakovleva, V.R. Saitov.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kopf P.G., Walker M.K. Overview of developmental heart defects by dioxins, PCBs, and pesticides // *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009. Vol. 27, N 4. P. 276–285. doi: 10.1080/10590500903310195
2. Vos J.G., Kuper C.F. Chemically-Induced Immunopathology and Immune Functional Changes // *J Toxicol Pathol.* 2004. Vol. 17, N 2. P. 137–146. doi: 10.1293/tox.17.137
3. Улахович Н.А., Кутырева М.П., Медянцева Э.П., Бабкина С.С. Экоотоксиканты. Казань: КГУ, 2010. 56 с.
4. Hassoun E.A., Li F., Abushaban A., Stohs S.J. The relative abilities of TCDD and its congeners to induce oxidative stress in the hepatic and brain tissues of rats after subchronic exposure // *Toxicology.* 2000. Vol. 145, N 2–3. P. 103–113. doi: 10.1016/S0300-483X(99)00221-8
5. Byers J.P., Masters K., Sarver J.G., Hassoun E.A. Association between the levels of biogenic amines and superoxide anion production in brain regions of rats after subchronic exposure to TCDD // *Toxicology.* 2006. Vol. 228, N 2–3. P. 291–298. doi: 10.1016/j.tox.2006.09.009
6. Wan C., Liu J., Nie X., et al. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-P-dioxin (TCDD) induces premature senescence in human and rodent neuronal cells via ROS-dependent mechanisms // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, N 2. P. e89811. doi: 10.1371/journal.pone.0089811
7. Сайтов В.Р., Осянин К.А., Сальникова М.М., и др. Влияние диоксина на ультраструктуру клеток различных органов овец в малых дозах // *Вестник Новосибирского государственного аграрного университета.* 2011. № 4 (20). С. 87–94.
8. Rosińczuk J., Dymarek R., Całkosiński I. Histopathological, ultrastructural, and immunohistochemical assessment of hippocampus structures of rats exposed to TCDD and high doses of tocopherol and acetylsalicylic acid // *Biomed Res Int.* 2015. P. 645603. doi: 10.1155/2015/645603
9. Sandell J.H., Peters A. Disrupted myelin and axon loss in the anterior commissure of the aged rhesus monkey // *J Comp Neurol.* 2003. Vol. 466, N 1. P. 14–30. doi: 10.1002/cne.10859
10. Peters A., Sethares C., Luebke J.I. Synapses are lost during aging in the primate prefrontal cortex // *Neuroscience.* 2008. Vol. 152, N 4. P. 970–981. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.07.014
11. Бибикова Е.Е., Гуськов А.О., Харитонов Е.А. Морфологические проявления нейронального липофусциноза // *Тверской медицинский журнал.* 2018. № 3. С. 45–46.
12. Шакирова С.М. Морфологические изменения в периферической нервной системе овец при нитратной интоксикации // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство.* 2013. № 4. С. 28–34. doi: 10.22363/2312-797X-2013-4-28-34
13. Рева И.В., Рева Г.В., Ямамото Т.Т., и др. Старение и ишемия нейронов // *Современные проблемы науки и образования.* 2015. № 2–2. С. 811.
14. Сайтов В.Р., Сальникова М.М., Малютина Л.В. Изучение ультраструктуры коры больших полушарий кроликов, при сочетанном воздействии экотоксикантов и применении лекарственных средств // *Ветеринарный врач.* 2014. № 1. С. 14–20.

REFERENCES

1. Kopf PG, Walker MK. Overview of developmental heart defects by dioxins, PCBs, and pesticides. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009;27(4):276–285. doi: 10.1080/10590500903310195
2. Vos JG, Kuper CF. Chemically-Induced Immunopathology and Immune Functional Changes. *J Toxicol Pathol.* 2004;17(2):137–146. doi: 10.1293/tox.17.137
3. Ulahovich NA, Kuttyreva MP, Medyantseva EP., Babkina SS. *Eco-toxicants.* Kazan: KGU; 2010. 56 p. (In Russ).
4. Hassoun EA, Li F, Abushaban A, Stohs SJ. The relative abilities of TCDD and its congeners to induce oxidative stress in the hepatic and brain tissues of rats after subchronic exposure. *Toxicology.* 2000;145(2-3):103–113. doi: 10.1016/S0300-483X(99)00221-8
5. Byers JP, Masters K, Sarver JG, Hassoun EA. Association between the levels of biogenic amines and superoxide anion production in brain regions of rats after subchronic exposure to TCDD. *Toxicology.* 2006;228(2-3):291–298. doi: 10.1016/j.tox.2006.09.009
6. Wan C, Liu J, Nie X, et al. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-P-dioxin (TCDD) induces premature senescence in human and rodent neuronal cells via ROS-dependent mechanisms. *PLoS One.* 2014;9(2):e89811. doi: 10.1371/journal.pone.0089811
7. Saitov VR, Osyenin KA, Salnikova MM, et al. Influence of dioxin on cells ultrastructure of sheep organs in low doses. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University.* 2011;(4):87–94. (In Russ).
8. Rosińczuk J, Dymarek R, Całkosiński I. Histopathological, ultrastructural, and immunohistochemical assessment of hippocampus structures of rats exposed to TCDD and high doses of tocopherol and acetylsalicylic acid. *Biomed Res Int.* 2015;645603. doi: 10.1155/2015/645603
9. Sandell JH, Peters A. Disrupted myelin and axon loss in the anterior commissure of the aged rhesus monkey. *J Comp Neurol.* 2003;466(1):14–30. doi: 10.1002/cne.10859
10. Peters A, Sethares C, Luebke JI. Synapses are lost during aging in the primate prefrontal cortex. *Neuroscience.* 2008;152(4):970–981. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.07.014
11. Bibikova EE, Guskov AO, Haritonova EA. Morphological manifestations of neuronal lipofuscinosis. *Tver Medical Journal.* 2018;(3):45–46. (In Russ).
12. Shakirova SM. Morphological changes in peripheral nervous system of sheep in nitrate intoxication. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries.* 2013;(4):28–34. (In Russ). doi: 10.22363/2312-797X-2013-4-28-34
13. Reva IV, Reva GV, Yamamoto TT, et al. Aging and ischemia neurons. *Modern Problems of Science and Education.* 2015;(2-2):811. (In Russ). doi: 10.17513/spno.129-22050
14. Saitov VR, Salnikova MM, Malyutina LV. Rabbit ultrastructure cortex study at affect of ecotoxikants and some drugs. *Veterinarny Vrach.* 2014;(1):14–20. (In Russ).

ОБ АВТОРАХ

*** Сальникова Марина Михайловна;**

адрес: 420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлёвская, д. 18;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3928-4974>;

e-mail: m_salnikova@mail.ru;

eLibrary SPIN: 6865-5296

Яковлева Анастасия Игоревна;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3052-6463>;

eLibrary SPIN: 3708-8862;

e-mail: jakovleva_ana@mail.ru

Саитов Вадим Расимович;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9815-1314>;

e-mail: sinsavara@yandex.ru;

eLibrary SPIN: 9206-0274

Голубев Анатолий Иванович;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1049-0467>;

e-mail: anatolii.golubev_1937@mail.ru;

eLibrary SPIN: 7469-9567

AUTHOR INFO

*** Marina M. Salnikova;**

address: 18, Kremlevskaya St., Kazan, 420008, Russia;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3928-4974>;

e-mail: m_salnikova@mail.ru;

eLibrary SPIN: 6865-5296

Anastasia I. Yakovleva;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3052-6463>;

eLibrary SPIN: 3708-8862;

e-mail: jakovleva_ana@mail.ru

Vadim R. Saitov;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9815-1314>;

e-mail: sinsavara@yandex.ru;

eLibrary SPIN: 9206-0274

Anatoliy I. Golubev;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1049-0467>;

e-mail: anatolii.golubev_1937@mail.ru;

eLibrary SPIN: 7469-9567

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110839>

Макромикроскопическое исследование клапанов глубокой дорсальной вены полового члена человека

А.Н. Стрелков¹, А.Ф. Астраханцев², С.В. Снегур¹¹ Областная клиническая больница, Рязань, Российская Федерация² Центральная клиническая больница № 2 имени Н.А. Семашко, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Изучение строения глубокой дорсальной вены полового члена человека имеет давнюю историю, однако до настоящего времени данные о наличии клапанов в ней противоречивы. Неясности и противоречия в функционировании клапанного аппарата глубокой дорсальной вены, отсутствие информации по строению её клапанов при важной роли вен в физиологии эрекции определили необходимость данного исследования.

Цель — изучить строение клапанов глубокой дорсальной вены полового члена человека.

Материалы и методы. С использованием макроскопического и микроскопического методов проведено исследование клапанов глубокой дорсальной вены у 150 мужчин. Работа выполнена на аутопсийном материале. Исследовано 47 стволов глубокой дорсальной вены, выделенной с применением увеличительной оптики $\times 3,5$ от шейки головки полового члена до простатического венозного сплетения и 103 фрагмента вены в поперечном сечении непосредственно дистальнее подвешивающей связки полового члена. Использовали окраску гематоксилин-эозином, фуксин-пикрофуксином, а также по Маллори. Полученные изображения клапанов в продольном и поперечном сечениях подвергали фоторегистрации и архивированию для последующего детального изучения и анализа.

Результаты. Как правило, исследуемая вена имеет один ствол, но в 7,3% наблюдений она представлена двумя стволами. Чаще всего имеет место деление основного ствола вены. Клапаны глубокой дорсальной вены в продольном сечении выявляются в 89% наблюдений. На поперечном срезе в 36% случаев клапан выявляется вблизи подвешивающей связки полового члена. Чаще всего клапаны представлены двумя створками, в основании которых находится валик, связанный со средней оболочкой стенки вены. Клапаны глубокой дорсальной вены полового члена имеют типичный вид клапанов карманного типа и не препятствуют оттоку венозной крови из пещеристых тел, блокируя ретроградный кровоток.

Выводы. Клапаны регулярно обнаруживаются в глубокой дорсальной вене полового члена человека. Их строение свидетельствует о том, что они препятствуют ретроградному кровотоку к пещеристым телам как в покое, так и при эрекции.

Ключевые слова: глубокая дорсальная вена полового члена; половой член; мужчины; клапаны; морфологическое исследование.

Как цитировать:

Стрелков А.Н., Астраханцев А.Ф., Снегур С.В. Макромикроскопическое исследование клапанов глубокой дорсальной вены полового члена человека // Морфология. 2021. Т. 159, № 3. С. 117–124. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110839>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110839>

Macro-microscopic examination of the valves of the deep dorsal vein of the human penis

Aleksey N. Strelkov¹, Aleksander F. Astrakhantsev², Svetlana V. Snegur¹

¹ Regional Clinical Hospital, Ryazan, Russian Federation;

² Semashko Central Clinical Hospital No. 2, Russian Federation

Abstract

BACKGROUND: The study of the structure of the deep dorsal vein of the human penis has a long history but, so far, data on the presence of valves in it are contradictory. Contradictions and ambiguities in the functioning of the valvular apparatus of the deep dorsal vein, lack of information on the morphological structure of its valves, and the importance of the venous system in the physiology of erection motivated this study.

AIM: To study the valves of the deep dorsal vein of the human penis.

MATERIALS AND METHODS: The study of deep dorsal vein valves in 150 men was carried out, using macroscopic and microscopic methods, on autopsy material. Forty-seven trunks of the deep dorsal vein isolated using magnifying optics $\times 3.5$ from the coronal sulcus to the prostatic venous plexus and 103 fragments of the vein in cross section directly distal to the supporting ligament were studied. We used histological painting coloring with hematoxylin-eosin, functionam with fuchsin, and Mallory. The obtained images of valves in longitudinal and cross sections were subjected to photo-registration and archiving for further study and analysis.

RESULTS: Generally, the studied vein had one trunk, but in 7.3% of cases it had two trunks. Most often there was a division of the main trunk of the vein. Valves of the deep dorsal vein in the longitudinal section were detected in 89% of observations. On the cross section, the valve in 36% of cases was detected near the supporting ligament. Valves are represented most often by two flaps, at the base of which was a roller associated with the middle shell of the vein wall. The valves of the deep dorsal vein of the penis had the typical appearance of pocket type valves and did not prevent the outflow of venous blood from the cavernous bodies, blocking retrograde blood flow.

CONCLUSIONS: Valves are an integral component of the deep dorsal vein of the human penis. The structure of the valves indicates that they prevent retrograde blood flow to the cavernous bodies, both at rest and during erection.

Keywords: deep dorsal vein; penis; men; valves; morphological study.

To cite this article:

Strelkov AN, Astrakhantsev AF, Snegur SV. Macro-microscopic examination of the valves of the deep dorsal vein of the human penis. *Morphology*. 2021;159(3):117–124. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110839>

ВВЕДЕНИЕ

В эректильной функции кавернозных тел полового члена сосудистый компонент играет ключевую роль. Для развития и поддержания достаточной по силе и продолжительности эрекции необходим адекватный артериальный приток, интактная, способная к релаксации пещеристая ткань и эффективный веноокклюзивный механизм. На важность последнего указывают многие исследователи [1, 2]. Блокирование венозного оттока приводит к созданию максимального внутрипещеристого давления, достаточного для интродукции. Редукция венозного оттока из пещеристых тел происходит вследствие сдавливания подболовочного венозного сплетения пещеристой тканью по мере нарастания тумесценции и повышения давления в пещеристых телах. При увеличении полового члена в размерах в начале развития эрекции происходит смещение внутреннего циркулярного слоя относительно наружного продольного слоя белочной оболочки, что приводит к дополнительной компрессии вен-перфорантов полового члена [3]. Основными венозными коллекторами являются глубокие вены полового члена и глубокая дорсальная вена полового члена (ГДВ), по ним кровь оттекает от пещеристых тел и губчатого тела полового члена соответственно в систему подвздошных вен и простатического венозного сплетения. Более 60% венозной крови от пещеристых тел оттекает по ГДВ [2].

История изучения венозных клапанов совпадает с историей изучения вен вообще (начало XVII в.) и связана с именами И. Фабриция (1603) и У. Гарвея (1628). Несмотря на большое число проведённых исследований, в оценке физиологических механизмов деятельности клапанов остаётся немало сложностей. Хотя изучение строения ГДВ также имеет давнюю историю, до настоящего времени данные о наличии клапанов в ней противоречивы: наряду с исследованиями, подтверждающими их наличие [4], имеются данные об их отсутствии или как о редко встречаемом компоненте венозной стенки [5]. В доступной литературе нами не найдено работ, посвящённых строению клапанов ГДВ. В то же время неоднозначные результаты различных видов веноредукционных операций привели к уменьшению интереса к ним [6–8]. Противоречия и неясности в функционировании клапанного аппарата ГДВ, отсутствие информации по строению её клапанов при несомненном значении вен в физиологии эрекции определили необходимость данного исследования.

Целью настоящей работы является макро- и микроскопическое исследование клапанов ГДВ полового члена человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на аутопсийном материале ГДВ 150 мужчин, погибших вследствие острых, не связанных с патологией органов малого таза заболеваний.

Материал получен в патологоанатомическом отделении Областной клинической больницы (г. Рязань). На проведение исследования получено разрешение локального этического комитета Областной клинической больницы (№ 2 от 04.03.2013 г.).

Фрагменты ГДВ получали двумя способами. Первая часть получена путём отделения ГДВ от места деления основного ствола у шейки головки полового члена до уровня подвешивающей связки полового члена включительно. Длину вены измеряли линейкой с ценой деления 1 мм и рассекали в продольном направлении. Производили визуальный осмотр слизистой вены на всём протяжении, затем рассекали её на равновеликие фрагменты длиной около 2 см. Выделение вены и осмотр её интимы осуществлялись с применением очков-луп Surgitel (США) с увеличением $\times 3,5$. Макроскопически оценивали наличие клапаноподобных структур интимы, фотографировали вены со стороны интимы. Фрагменты вен фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезживали в спиртах восходящей крепости, заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, фуксин-пикрофуксином, а также по Маллори.

Вторую часть материала составили поперечные фрагменты пещеристых тел, полученные при аутопсии 103 лиц мужского пола. Для гистологического исследования иссекали поперечный фрагмент пещеристого тела длиной около 0,5 см. При этом получали фрагменты, включавшие пещеристые тела, губчатое тело уретры в поперечном сечении на расстоянии 0,5–2 см дистальнее подвешивающей связки полового члена. Гистологические препараты ГДВ в продольном направлении и поперечном срезе пещеристых тел исследовали с различным увеличением на микроскопе Zeiss Axio Imager A1 (Германия), подвергали фоторегистрации с последующим архивированием цифровых изображений для дальнейшего анализа. Статистическая обработка проводилась с использованием программы Microsoft Excel 2010 и включала вычисление среднего значения количественного параметра (μ) и стандартного отклонения (σ).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В первой группе из 47 наблюдений два ствола ГДВ выявлены в 3 случаях — 6,5% (таблица). Длина венозного ствола при выделении вен в продольном направлении колебалась от 9 до 18 см, в среднем составив 14 см. Получали венозный ствол, разделённый на 5–8 фрагментов. Выявляли от 1 до 5 клапанов в каждом венозном стволе, всего выявили клапаны в 42 наблюдениях из 47 (89%). При этом получили фотографии 65 клапанов. Таким образом, проанализировано около 611 см ГДВ, т.е. 1 клапан приходится на 9,4 см ГДВ. Лишь в 5 (11%) случаях нами не выявлены какие-либо клапанные структуры при макромикроскопическом исследовании ГДВ.

Таблица. Характеристика выявленных стволов глубокой дорсальной вены полового члена и её клапанов в продольном и поперечном сечении

Table. Characteristics of the identified stems of the deep dorsal vein and its valves in longitudinal and transverse sections

Направление сечения	Количество стволов, n (%)		Длина, см ($\mu\sigma$)	Встречаемость клапана: наблюдения / частота, % / всего	Количество клапанов в 1 наблюдении ($\mu\sigma$)	Длина вены на 1 клапан, см
	1	2				
Продольное ($n=47$)	44 (93,5)	3 (6,5)	9–18 ($13\pm 1,8$)	42/89/65	1–5 ($1,7\pm 0,9$)	9,3
Поперечное ($n=103$)	95 (92,2)	8 (7,8)	–	37/36/45	–	–
Всего ($n=150$)	139 (92,7)	11 (7,3)	–	110*	–	–

Примечание. * Общее число выявленных клапанов во всех наблюдениях.

Во второй группе из 103 проанализированных случаев поперечных срезов кавернозных тел в 8 наблюдениях выявлены два ствола ГДВ на расстоянии 2 см от подвешивающей связки — около 7,8%. ГДВ находится под фасцией Бака непосредственно на белочной оболочке пещеристых тел, в отличие от поверхностной дорсальной вены полового члена, расположенной над упомянутой фасцией. Следует отметить, что при этом во всех случаях выявлены клапаны в обоих венозных стволах. Клапаны в ГДВ при этом выявлены в 37 (около 36%) случаях, т.е. довольно постоянные структуры в данной локализации. Возможно, они играют роль остиальных клапанов. Таким образом, на продольном и поперечном срезе изучены микрофотографии 110 клапанов ГДВ (см. таблицу).

Чаще всего клапаны ГДВ представлены двумя створками, обеспечивающими полное перекрытие ретроградного кровотока (рис. 1).

При этом клапаны имели типичное строение. В них чётко определялись клапанный валик и клапанные паруса. Клапанный валик — место крепления клапана к стенке вены, выступающее в её просвете в виде полукольца. В его основе — мощные пучки коллагеновых и мышечных волокон, переходящие и как бы вплетающиеся в коллагеновый каркас средней оболочки (рис. 2).

Клапанные паруса или створки представлены двумя подвижными частями, которые и обеспечивают закрытие просвета вены при ретроградном кровотоке. Створки клапана состоят преимущественно из коллагеновых волокон и являются очень тонкими (рис. 3). Это позволяет клапанам, будучи негромоздкими структурами, обеспечивать отток крови в одном направлении. Сторона клапана, обращённая к току крови, покрыта эндотелием, имеющим уплощённую форму. На поверхности, обращённой к синусу, эндотелий более высокий, полигональной формы.

Расположенные зеркально на противоположных стенках вены две створки при функционирующем клапане формируют собственно два купола венозного клапана. Просвет венозного сосуда, находящийся между стенкой вены и клапанным парусом, формирует синус (или пазуху) венозного клапана. Именно там задерживается кровь при закрытом венозном клапане (рис. 4). Стенки синуса, таким образом, играют роль буфера, принимающего

на себя вместе с самим клапаном энергию движущейся крови. При изменении гемодинамических условий и открытии венозного клапана кровь из синусов продолжает движение к сердцу.

Морфологическое исследование венозных клапанов ГДВ и получение изображений клапанов в двух плоскостях позволяют констатировать, что венозный клапан представлен двумя створками, имеющими точки фиксации к стенке вены на разном уровне. При этом имеются

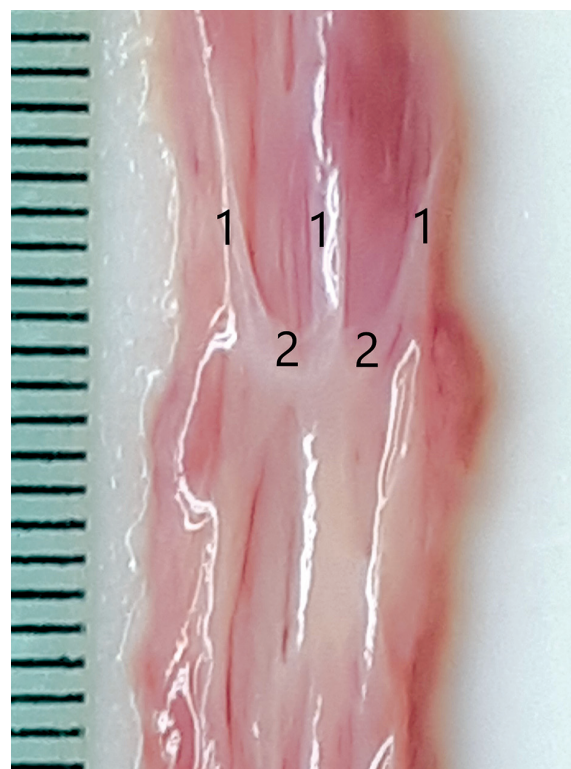


Рис. 1. Макрофотография фрагмента глубокой дорсальной вены. Отчётливо виден клапан, представленный двумя полулунными створками (2). Места фиксации клапана — клапанные валики (1). Рядом — линейка с ценой деления 1 мм.

Fig. 1. Macrophotography of a deep dorsal vein fragment. The valve is visible, consisting of two semilunar cusps (2). Valve fixation points are valve cushions (1). Beside the dorsal vein is a ruler with a graduation of 1 mm.

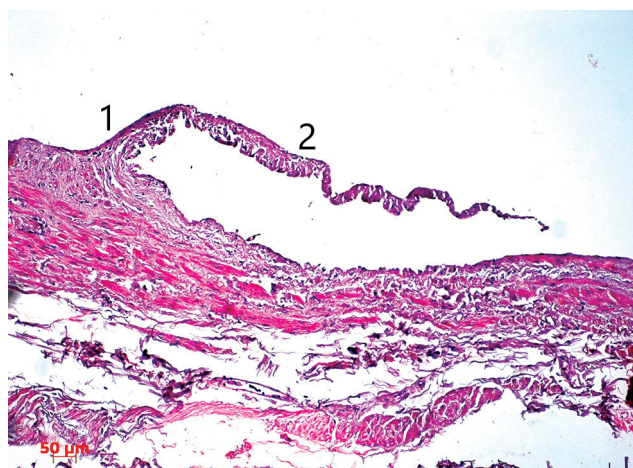


Рис. 2. Клапан глубокой дорсальной вены в продольном сечении представлен мощным клапанным валиком (1) и фрагментом створки (2). Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$.

Fig. 2. The valve of the deep dorsal vein in longitudinal section consists of a potent valve cushion (1) and a cusp fragment (2). Hematoxylin-eosin staining. Magnification $\times 200$.

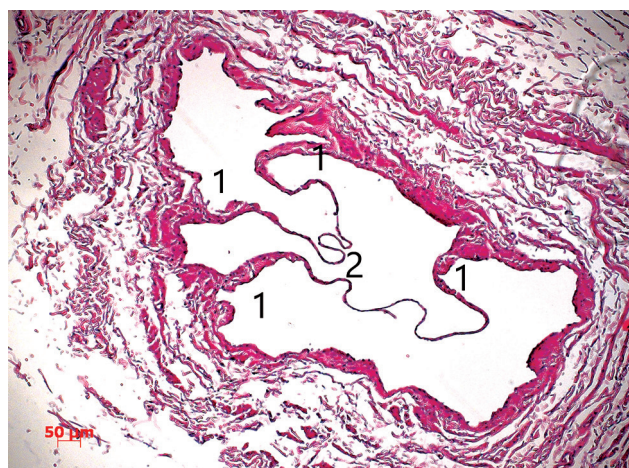


Рис. 3. Клапан глубокой дорсальной вены на поперечном срезе. Определяются клапанные валики (1) и створки (2). Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 100$.

Fig. 3. Valve of the deep dorsal vein in cross section. The valve cushions (1) and cusps (2) are shown. Hematoxylin-eosin staining. Magnification $\times 100$.

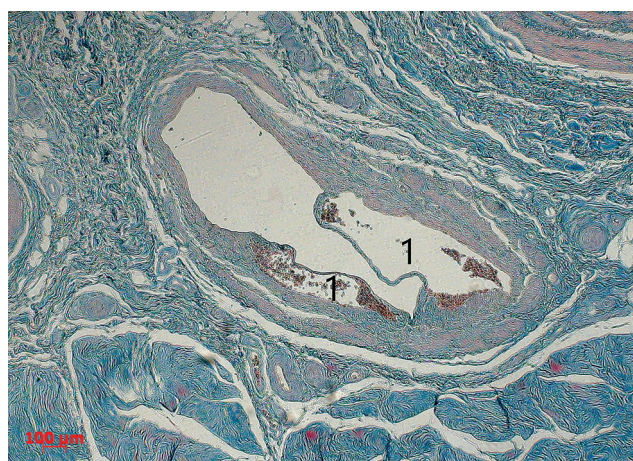


Рис. 4. Клапан глубокой дорсальной вены с частичным перекрытием просвета. В синусе клапана (1) скопления эритроцитов. Окраска по Маллори. Ув. $\times 50$.

Fig. 4. Valve of the deep dorsal vein with partial occlusion of the lumen, showing accumulations of erythrocytes in the valve sinus (1). Mallory staining. Magnification $\times 50$.

две зоны, где наиболее проксимальные места клапанных валиков соединяются. Таким образом, формируется участок клапанного валика, в котором фиксируются паруса обеих створок. Эти точки расположены дистально относительно тока крови и имеют хорошо выраженный гладкомышечный компонент.

Данная зона представляет интерес по двум причинам. Во-первых, эти участки валиков, вероятно, выступают своеобразными волнорезами на пути ретроградного тока крови, направляя туда поток ретроградного кровотока, способствуют повышению давления в синусе,

что способствует смыканию створок клапана. Во-вторых, наличие выраженного мышечного компонента в стенке вены может свидетельствовать о регулирующей роли данного образования в равномерном натяжении створок клапана и предотвращении его повреждения. Фактически они представляют собой сближающиеся латеральные части паруса, служащие также для усиления клапана, т.е. клапаны имеют типичный вид клапанов карманного типа.

В адвентиции, представленной соединительной тканью, определяются крупные артериальные сосуды с утолщёнными стенками, а также многочисленные нервные стволы.

ОБСУЖДЕНИЕ

ГДВ является основным коллектором венозной крови, оттекающей из пещеристых тел, а также от губчатого тела полового члена, включая головку полового члена. Выявленное нами неполное удвоение ГДВ в 7,3% наблюдений обнаруживалось и ранее [4]. Индивидуальные особенности строения путей венозного оттока, отличающиеся от классического описания, могут быть одной из причин невысокой эффективности веноредуцирующей хирургии при веногенной эректильной дисфункции [7]. По полученным нами данным, как указывалось и ранее некоторыми авторами [4], клапаны являются постоянным компонентом ГДВ полового члена. Имеются указания на наличие единственного клапана в ГДВ, причем всегда на уровне основания полового члена [9]. Полученные в работе данные о наличии до 5 клапанов в изучаемой вене свидетельствуют о сформированном клапанном аппарате ГДВ. Проведённое макромикроскопическое исследование позволило изучить строение клапанов ГДВ, имеющих типичный вид

клапанов карманного типа. Считается, что клапаны регулярно расположены вблизи мест впадения в вену другого венозного ствола [10]. Высокая частота встречаемости клапана (36%) вблизи подвешивающей связки полового члена — свидетельство возможной роли клапана данной локализации в качестве остиального. С этих позиций представляет практический интерес не только строение, но и функционирование венозного клапана.

В целом трёхслойное строение стенки вены отражает принципиально различную роль оболочек вены в функции кровеносного сосуда. Внутренняя оболочка (*tunica intima*) обеспечивает контакт с протекающей кровью, обмен веществ, сохранение реологических свойств потока крови с минимальным трением. Венозные клапаны считаются производными интимы. Они представлены во всех венозных сосудах и обеспечивают венозный возврат крови к сердцу. Следует уточнить, что к производным интимы в прямом понимании можно отнести лишь створки клапана ГДВ, формирующие клапанный парус.

Средняя оболочка (*tunica media*) выполняет опорно-механическую функцию, противодействуя внутреннему давлению. Наличие развитой гладкой мускулатуры в средней оболочке предполагает её основную роль в изменении объёма сосуда, определяемого тонусом гладких миоцитов. Нами отмечено, что валик венозного клапана имеет выраженный гладкомышечный компонент. Его довольно мощные мышечные и коллагеновые волокна связаны с аналогичными структурами средней оболочки стенки вены. Они создают каркас и служат опорой створкам клапана, которые являются важнейшим функциональным элементом всего комплекса. Так, закрытый клапан вен нижних конечностей способен выдерживать большое давление — до 3 атм без разрыва [10]. При этом основу створки образуют пластины из коллагеновых волокон, которые армируют перекрещивающуюся решетку, а по краям створки сливающиеся пучки формируют мощный фиброзный тяж. При этом сама створка способна занимать положение, не мешающее оттоку крови в физиологических условиях и препятствующее ретроградному кровотоку при повышении давления в проксимальных отделах венозного ствола. Клапаны закрываются только тогда, когда возникает тенденция к ретроградному кровотоку (давление над клапаном превышает давление под ним). Створки клапана размыкаются сразу же, как только давление вновь поступающей крови от периферии к сердцу превысит давление над клапаном.

Наружная оболочка (*tunica adventitia*) выполняет защитно-трофическую функцию и сочетает в себе наличие механической защитной коллагеновой сети с проходящими через неё основными трофическими образованиями (*v. vasorum*, *n. vasorum*), которые достигают структур средней оболочки. При этом наружное окружение ГДВ неодинаково на всём протяжении: если от венечной борозды до подвешивающей связки полового члена вена окружена нежной соединительной тканью и подвижна,

то на уровне поддерживающей связки она находится в её плотном соединительнотканном футляре, и мобильность вены снижена. В ранних работах указывалось на наличие сфинктера ГДВ в данной локализации [11]. Возможно, регулярно обнаруживаемый клапан ГДВ играет роль регулирующего сфинктера.

Все выявленные нами клапаны ГДВ имеют направление, согласующееся с принципами гемодинамики: обеспечивают одностороннюю направленность венозного кровотока от снабжаемой пещеристой ткани к сердцу. Функциональное предназначение пещеристой ткани заключается в создании высокого давления в пещеристых телах и, соответственно, выполняют эректильную функцию. С точки зрения функционирования пещеристой ткани роль клапанов ГДВ, скорее, создаёт предпосылки к беспрепятственному венозному оттоку, чем способствует поддержанию эрекции. Хорошо известно, что с возрастом увеличивается и частота нарушений эрекции, имеющих ряд изученных этиологических факторов. Выявляемое снижение упругих свойств ГДВ с увеличением возраста может играть роль в венозном кровотоке [12]. Сдавливание вен подболовочного венозного сплетения, вен-перфорантов на фоне повышения давления во время эрекции, сокращение седалищно-пещеристых мышц позволяют достигать и поддерживать достаточную по силе и продолжительности эрекцию. При этом функционирование клапанов ГДВ не имеет решающего значения в эректильной функции. В то же время односторонность венозного кровотока от пещеристых тел в состоянии физиологического покоя обеспечивает стабильные гемодинамические условия для пещеристой ткани.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Клапаны глубокой дорсальной вены полового члена являются постоянной структурой венозного ствола и обнаруживаются более чем в 89% исследованных секционных наблюдений. При этом регулярно обнаруживаются клапаны в её проксимальных отделах.

2. По своему строению клапаны глубокой дорсальной вены полового члена чаще всего представлены двумя легкими парусами (створками), опорой которым создают мощные клапанные валики, т.е. имеют строение, характерное для клапанов вен нижней половины туловища.

3. Направление створок клапанов согласуется с общим принципом строения венозных коллекторов системы нижней поллой вены и препятствует ретроградному кровотоку к пещеристым телам как в покое, так и при эрекции.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: концепция и дизайн исследования — А.Н. Стрелков; сбор и обработка материала — А.Н. Стрелков, С.В. Снегур; статистическая обработка данных — А.Н. Стрелков; анализ и интерпретация данных — А.Н. Стрелков, А.Ф. Астраханцев, С.В. Снегур; написание и редактирование текста — А.Н. Стрелков, А.Ф. Астраханцев.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Author contribution. All authors confirm the compliance of their authorship, according to international ICMJE criteria (all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published). The concept and design of the study — A.N. Strelkov; collection and processing of material — A.N. Strelkov, S.V. Snegur; statistical data processing — A.N. Strelkov; data analysis and interpretation — A.N. Strelkov, A.F. Astrakhansev, S.V. Snegur; writing and editing the text — A.N. Strelkov, A.F. Astrakhansev.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Herwig R., Kamel A., Shabsigh R. Erectile dysfunction and cavernous veno-occlusive disease // *J Mens Health*. 2019. Vol. 15, N 2. P. 12–19. doi: 10.22374/jomh.v15i2.67
2. Hsu G.L., Hung Y.P., Tsai M.H., et al. The venous drainage of the corpora cavernosa in the human penis // *Arab J Urol*. 2013. Vol. 11, N 4. P. 384–391. doi: 10.1016/j.aju.2013.04.002
3. Hsieh C.H., Liu S.P., Hsu G.L., et al. Advances in understanding of mammalian penile evolution, human penile anatomy and human erection physiology: clinical implications for physicians and surgeons // *Med Sci Monit*. 2012. Vol. 18, N 7. P. RA118–125. doi: 10.12659/msm.883201
4. Гайворонский И.В., Горячева И.А., Матвиенко Ю.А., и др. Половой член. Анатомия эректильной дисфункции. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2018. 191 с.
5. Садовников В.И., Филиппов В.В., Сандриков В.А., и др. Венозная система полового члена // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2005. № 9. С. 63–68.
6. Диагностика и лечение веногенной эректильной дисфункции: клиническое руководство / под ред. Д.Г. Курбатова. Москва: Медпрактика-М, 2017. 256 с.
7. Hallerstrom M., von Stempel C.B., Raheem A., Walkden M. Abnormal deep dorsal vein resulting in veno-occlusive erection

- tile dysfunction // *BMJ Case Rep*. 2018. P. bcr2017223496. doi: 10.1136/bcr-2017-223496
8. Lee D., Rotem E., Lewis R., et al. Bilateral external and internal pudendal veins embolization treatment for venogenic erectile dysfunction // *Radiol Case Rep*. 2016. Vol. 12, N 1. P. 92–96. doi: 10.1016/j.radcr.2016.11.002
9. Околокулак Е.С., Волчкевич Д.А. Конституциональная изменчивость сосудов полового члена человека // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2003. № 2. С. 38–41.
10. Трушков П.В. Трактат о венозном клапане человека. Киров: Кировская областная типография, 2006. 120 с.
11. Casey W.C., Woods R.W. Anatomy and histology of penile deep dorsal vein: venous cushions and proximal "sphincter" // *Urology*. 1982. Vol. 19, N 3. P. 284–286. doi: 10.1016/0090-4295(82)90500-3
12. Стрелков А.Н., Улитенко А.И. Возрастная динамика упругости глубокой дорсальной вены полового члена человека по данным прямых измерений // *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2018. Т. 26, № 2. С. 238–244. doi: 10.23888/PAVLOVJ2018262238-244

REFERENCES

1. Herwig R, Kamel A, Shabsigh R. Erectile dysfunction and cavernous veno-occlusive disease. *J Mens Health*. 2019;15(2):12–19. doi: 10.22374/jomh.v15i2.67
2. Hsu GL, Hung YP, Tsai MH, et al. The venous drainage of the corpora cavernosa in the human penis. *Arab J Urol*. 2013;11(4):384–391. doi: 10.1016/j.aju.2013.04.002
3. Hsieh CH, Liu SP, Hsu GL, et al. Advances in understanding of mammalian penile evolution, human penile anatomy and human erection physiology: clinical implications for physicians and surgeons. *Med Sci Monit*. 2012;18(7):RA118–125. doi: 10.12659/msm.883201
4. Gaivoronskiy IV, Goryacheva IA, Matvienko YuA, et al. *Penis. Anatomy of erectile dysfunction* Saint Petersburg: SpetsLit; 2018. 191p. (In Russ).
5. Sadovnikov VI, Filippov VV, Sandrikov VA, et al. Venous system of penis. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2005;(9):63–68. (In Russ).
6. Kurbatov DG (editor). *Diagnostic and treatment venogenic erection dysfunction: clinical handbook*. Moscow: Medpraktika-M; 2017. 256 p. (In Russ).

7. Hallerstrom M, von Stempel CB, Raheem A, Walkden M. Abnormal deep dorsal vein resulting in veno-occlusive erection dysfunction. *BMJ Case Rep*. 2018;bcr2017223496. doi: 10.1136/bcr-2017-223496
8. Lee D, Rotem E, Lewis R, et al. Bilateral external and internal pudendal veins embolization treatment for venogenic erection dysfunction. *Radiol Case Rep*. 2016;12(1):92–96. doi: 10.1016/j.radcr.2016.11.002
9. Okolokulak ES, Volchkevich DA. Constitutional variability of blood vessels of the penis of man. *Journal of Grodno State Medical University*. 2013;(2):38–41. (In Russ).
10. Trushkov PV. *Treatise on the human venous valve*. Kirov: Kirov Regional Printing House; 2006. 120 p. (In Russ).
11. Casey WC, Woods RW. Anatomy and histology of penile deep dorsal vein: venous cushions and proximal "sphincter". *Urology*. 1982;19(3):284–286. doi: 10.1016/0090-4295(82)90500-3
12. Strelkov AN, Ulitenko AI. Age-related dynamics of elasticity of deep dorsal vein of human penis according to results of direct measurements. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2018;26(2):238–244. doi: 10.23888/PAVLOVJ2018262238-244

ОБ АВТОРАХ

*** Стрелков Алексей Николаевич;**

адрес: 390039, Россия, Рязань, ул. Интернациональная, д. 3А;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1761-0529>;

e-mail: anstrel11@yandex.ru;

eLibrary SPIN: 3944-3061

Астраханцев Александр Федорович;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6385-0745>;

eLibrary SPIN: 4032-4686;

e-mail: afastra@mail.ru

Снегур Светлана Владимировна;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0038-0109>;

eLibrary SPIN: 8341-8588;

e-mail: svsnegur@yandex.ru

AUTHOR INFO

*** Aleksey N. Strelkov;**

address: 3A, Internationalnaya St., Ryazan, 390039, Russia;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1761-0529>;

e-mail: anstrel11@yandex.ru;

eLibrary SPIN: 3944-3061

Aleksandr F. Astrakhantsev;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6385-0745>;

eLibrary SPIN: 4032-4686;

e-mail: afastra@mail.ru

Svetlana V. Snegur;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0038-0109>;

eLibrary SPIN: 8341-8588;

e-mail: svsnegur@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110831>

Морфологическая перестройка мочевого пузыря в процессе возрастной инволюции

С.В. Куликов, И.С. Шорманов, А.С. Соловьев

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Обоснование. В связи с наметившейся тенденцией к старению населения в структуре заболеваемости неуклонно растёт доля геронтологической патологии с поражением различных органов и систем, в том числе связанной со структурными изменениями мочевого пузыря.

Цель — изучить морфологическую перестройку мочевого пузыря и его сосудистой системы у лиц пожилого и старческого возраста.

Материал и методы. С помощью ряда гистологических, морфометрических и статистических методик изучен аутопсийный материал в виде кусочков стенки мочевого пузыря от 25 мужчин в возрасте 60–80 лет. В качестве контроля использовали материал от 10 лиц в возрасте 20–30 лет, погибших в результате травм.

Результаты. Показано, что у мужчин в процессе старения во внеорганных артериях выявляются атеросклеротические изменения, приводящие к сужению просвета. Во внутриорганных артериях наблюдается утолщение меди, гиперэластоз и гиалиноз, также приводящие к редукции кровотока и являющиеся маркером артериальной гипертензии. Отражением приспособления к расстройству гемодинамики является формирование так называемых замыкающих артерий с мощным интимальным слоем. Со временем в меди артерий, а также в интима замыкающих сосудов нарастает склероз, вены мочевого пузыря утрачивают мощный гладкомышечный слой в стенке, подвергаются склерозу, что ведёт к затруднению оттока крови, усугубляя хроническую гипоксию. Ремоделирование сосудистого русла мочевого пузыря приводит к атрофии детрузора и дегенеративно-дисрегенеративным изменениям уротелия.

Выводы. В сосудистом русле мочевого пузыря у мужчин пожилого и старческого возраста прогрессируют атеросклеротические и ангиотонические изменения, свойственные артериальной гипертензии с последующим развитием атрофии детрузора и нарушением регенерации уротелия.

Ключевые слова: мужчины; пожилой возраст; старческий возраст; стенка мочевого пузыря; возрастные структурные изменения; морфометрия.

Как цитировать:

Куликов С.В., Шорманов И.С., Соловьев А.С. Морфологическая перестройка мочевого пузыря в процессе возрастной инволюции // Морфология. 2021. Т. 159, № 3. С. 125–132. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110831>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110831>

Morphological reconstruction of the bladder in the process of age-related involution

Sergey V. Kulikov, Igor S. Shormanov, Andrey S. Solovyev

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

ABSTRACT

BACKGROUND: Population aging has caused a steady increase in morbidity associated with gerontological pathology with lesions of various organs and systems, including those associated with structural changes in the bladder.

AIM: To study morphological rearrangements of the bladder and its vascular system in elderly and senile people.

MATERIAL AND METHODS: Autopsy material of the bladder wall from 25 men aged 60–80 years was studied using histological, morphometric, and statistical techniques. As a control, we used material from 10 persons aged 20–30 years who died from injuries.

RESULTS: Our results show that, in men in the process of aging, atherosclerotic changes occur in the extra-organic arteries, leading to a narrowing of the lumen. In the intra-organ arteries, thickening of the media, hyperelastosis, and hyalinosis are observed, leading to a reduction in blood flow and are markers of arterial hypertension. The formation of the so-called closing arteries with a powerful intima layer indicates adaptation to hemodynamic disorders. Over time, sclerosis grows in the media of arteries and in the intima of the closing vessels. The veins of the bladder lose a powerful smooth muscle layer in the wall and undergo sclerosis, making blood outflow difficult, and aggravating chronic hypoxia. Remodeling of the vascular bed of the bladder leads to detrusor atrophy and degenerative-dysregenerative changes in the urothelium.

CONCLUSIONS: In the vascular bed of the urinary bladder in elderly and senile men, atherosclerotic and angiotonic changes characteristic of arterial hypertension progress occur, followed by the development of detrusor atrophy and impaired urothelium regeneration.

Keywords: older men; age-related involution; urinary bladder; blood vessels; bladder wall; age-related structural changes; morphometry.

To cite this article:

Kulikov SV, Shormanov IS, Solovyev AS. Morphological reconstruction of the bladder in the process of age-related involution. *Morphology*. 2021;159(3):125–132. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.110831>

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение продолжительности жизни людей, свойственное многим экономически развитым странам мира, привело к значительному старению населения [1–3]. В связи с наметившейся демографической тенденцией в структуре заболеваемости людей неуклонно растёт доля геронтологической патологии с поражением различных органов и систем. Так, среди болезней урологического профиля следует выделить гиперплазию простаты и сенильный мочевой пузырь, причины развития которого на сегодняшний день до конца не изучены [4–7]. Анализ литературы показал, что работ, в которых бы освещались данные о структурных изменениях мочевого пузыря, полученные при изучении его различных тканевых компонентов и прежде всего внеорганных и внутриорганных кровеносных сосудов, нет [8–11]. Кроме того, большое значение, на наш взгляд, имеет и интерпретация описываемых в этом органе морфологических изменений, которые могут быть отражением естественных возрастных процессов или являться проявлением хронических заболеваний — так называемых болезней современного человека, часто встречающихся у лиц пожилого и старческого возраста [12, 13]. Попытка разобраться в обозначенной проблеме и предопределила цель нашего исследования.

Целью настоящего исследования является изучение морфологической перестройки мочевого пузыря у лиц пожилого и старческого возраста, а также определение её возможной роли в развитии функциональных нарушений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования был использован секционный материал. Фрагменты мочевого пузыря были получены в патологоанатомическом отделении Областной клинической больницы (г. Ярославль) от 25 мужчин в возрасте 60–80 лет, умерших от заболеваний, не относящихся к урологической и сердечно-сосудистой патологии. Во всех случаях данная патология не фигурировала ни в одной рубрике патологоанатомического диагноза, т.е. не только не участвовала в танатогенезе, но и не была сопутствующим заболеванием. В качестве контроля использовали материалы из танатологического отделения Ярославского областного бюро судебно-медицинской экспертизы, полученные от 10 лиц мужского пола в возрасте 20–30 лет, погибших в результате травм.

Отбор и взятие аутопсийного материала не противоречат требованиям Федерального закона от 12 января 1996 г. №8-ФЗ «О погребении и похоронном деле». На проведение исследования получено разрешение этического комитета Ярославского государственного медицинского университета (протокол № 41 от 22.10.2020).

Из различных зон мочевого пузыря (верхушка, передняя, боковая и задняя стенка, а также дно) вырезали участки стенки количеством 2–3 из каждой зоны на всю

толщину, включая наружную оболочку (серозная или адвентициальная) и паравезикальную клетчатку. Секционный материал фиксировали в 10% нейтральном формалине (Biovitrum, Россия) и заливали в парафин (Biovitrum, Россия). Гистологические срезы толщиной не более 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином (Biovitrum, Россия) по Масону на коллагеновые волокна с использованием бриллиантового зеленого (Labtech, Россия) и фукселином (Labtech, Россия) по Харту на эластические волокна. Морфометрию внутриорганных артерий и вен мочевого пузыря выполняли с помощью винтового окуляр-микрометра типа МОВ-1-15^х (Россия), измеряя наружный диаметр и толщину средней оболочки (меди) артерий и стенки вен. Для определения калибра изучаемых сосудов использовали разработанную нами ранее методику [14]. В соответствии с ней все внутриорганные артерии в зависимости от величины наружного диаметра были разделены на 4 группы:

- крупные (125 мкм и более);
- средние (51–124 мкм);
- мелкие (21–50 мкм);
- артериолы (20 мкм и менее).

Венозные коллекторы в зависимости от калибра разбивали:

- на крупные (190 мкм и более);
- средние (110–189 мкм);
- мелкие вены (51–109 мкм);
- венулы (50 мкм и менее).

На уровне крупных артерий измеряли толщину внутренней оболочки (интимы). Цифровой материал обрабатывали с помощью программы Statistica с использованием *t*-критерия Стьюдента. Проверка на нормальность распределения значений оцениваемых показателей в группах не проводилась. Полученные различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибки не превышала 5% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У мужчин пожилого и старческого возраста в мочевом пузыре наблюдались структурные изменения, затрагивающие его различные тканевые компоненты. Наиболее выраженные морфологические изменения выявлялись в сосудистом бассейне этого органа, включая артериальное и венозное русло. Так, большая часть (60%) крупных внеорганных артерий, относящихся к сосудам эласто-мышечного типа, располагавшихся в паравезикальной клетчатке и адвентициальной оболочке органа, имела очаговые бесструктурные утолщения интимы, покрытые фиброзной покрывкой и выступающие в просвет, что свидетельствовало о развитии стенозирующего атеросклероза. Наряду с этим в них отмечалось увеличение количества эластических волокон, что является проявлением гиперэласто-за — реакции стенки в ответ на растяжение вследствие артериальной гипертензии.

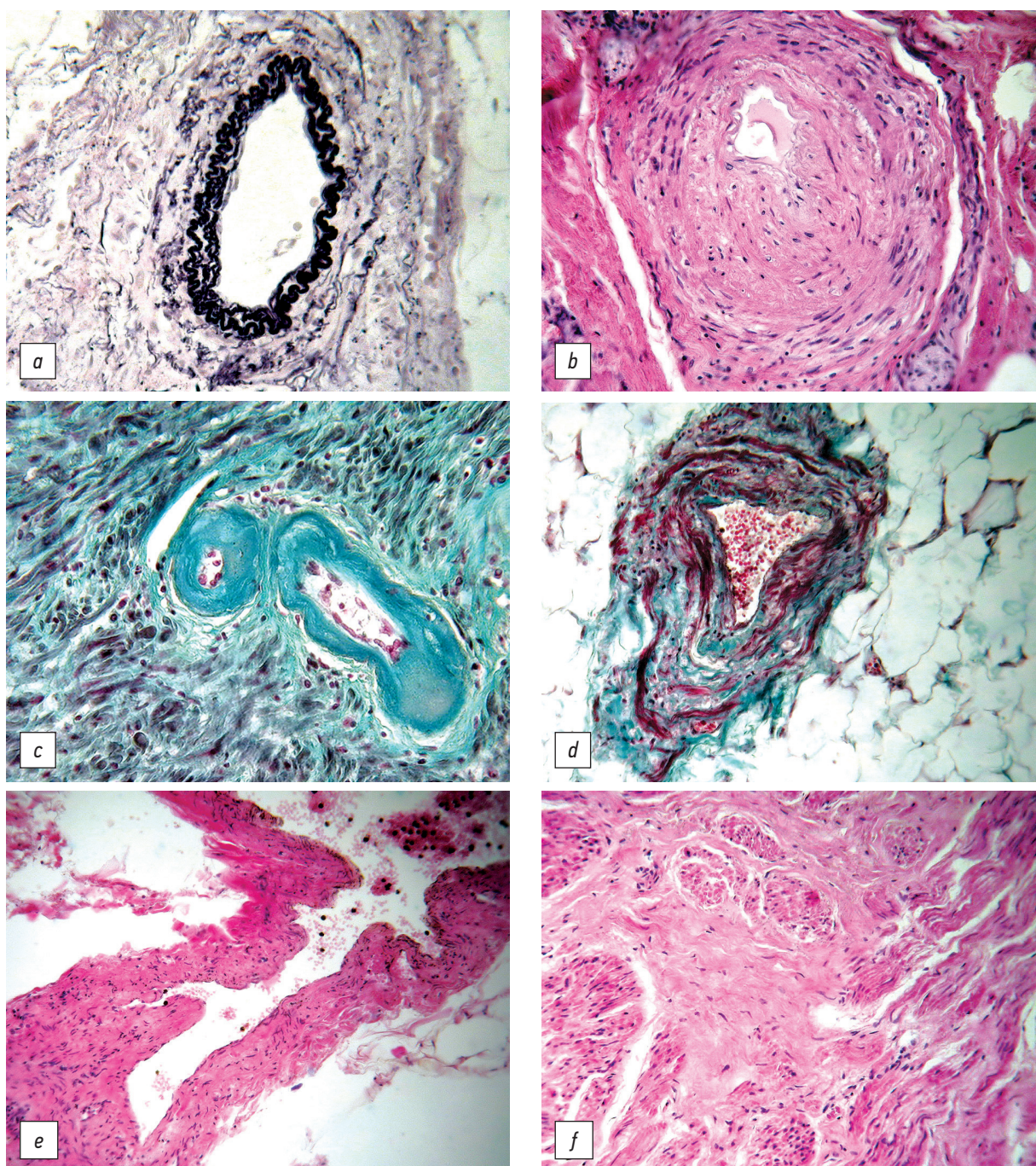


Рис. Морфологические изменения мочевого пузыря и его сосудистого русла у мужчин молодого возраста (*d*) и пожилого и старческого возраста (*a, b, c, e, f*): *a* — утолщение стенки средней артерии, повышенная складчатость и расщепление внутренней эластической мембраны на несколько пластинок; *b* — сужение просвета, резкое утолщение интимального слоя с разрастанием грубоволокнистой соединительной ткани и истончение гладкой мускулатуры средней оболочки крупной артерии; *c* — сужение просвета мелких артерий с замещением всех слоёв их стенок гиалином; *d* — стенка крупной вены с хорошо заметными мощными пучками гладких миоцитов; *e* — стенка крупной вены с её замещением грубоволокнистой соединительной тканью с утратой гладких миоцитов; *f* — поля рубцовой соединительной ткани в мышечном слое мочевого пузыря; Фиксация нейтральным формалином. Окраска: *a* — фукселином по Харту; *b, e, f* — гематоксилин-эозином; *c, d* — по Массону с использованием бриллиантового зеленого. Увеличение: *a, b, c, d* — об. 20, ок. 10; *e, f* — об. 10, ок. 10.

Fig. Morphological changes in the urinary bladder and its vascular bed in young men (*d*), and older and senile men (*a, b, c, e, f*): *a* — thickening of the middle artery wall, increased folding and splitting of the internal elastic membrane into several plates; *b* — narrowing of the lumen, a sharp thickening of the intimal layer with the proliferation of fibrous connective tissue (indicated by an arrow) and thinning of the smooth muscles of the tunica media of a large artery; *c* — narrowing of the lumen of small arteries with replacement of all layers of their walls with hyaline; *d* — the middle vein wall with clearly visible powerful bundles of smooth myocytes (indicated by an arrow); *e* — wall of a large vein with its replacement with fibrous connective tissue with the loss of smooth myocytes; *f* — fields of cicatricial connective tissue in the muscular layer of the urinary bladder (indicated by an arrow). Fixation with neutral formalin. Staining with *a* — Hart's fuchselin; *b, e, f* — hematoxylin-eosin; *c, d* — Masson's staining using brilliant green. Magnification: *a, b, c, d* — lens by 20, eye glass by 10; *e, f* — lens by 10, eye glass by 10.

Во внутриорганных артериях крупного и среднего калибра, по сравнению с контролем, наблюдалось утолщение меди и из-за увеличения в ней размеров гладких миоцитов. Внутренняя эластическая мембрана данных сосудов становилась гофрированной, утолщённой и расщеплённой на отдельные волокна (рис. *a*). Эндотелиальные клетки интимы вытягивались и ориентировались перпендикулярно просвету сосуда, принимая частоклообразный вид. Представленные морфологические изменения в стенках артерий указывают на повышение тонуса сосудов в результате артериальной гипертензии. Кроме того, в крупных артериях мочевого пузыря, наряду с утолщением циркулярной гладкой мускулатуры средней оболочки, определялся расширенный интимальный слой с неравномерным расположением в нем косо и продольно ориентированных пучков из гладкомышечных клеток. В 50% артерий указанный слой замещался на грубоволокнистую соединительную ткань, что приводило к резкому сужению просвета, при этом медиа подвергалась атрофии и склерозу (рис. *b*).

Структурные изменения наблюдались и во внутриорганных мелких артериях и артериолах мышечного типа, относящихся к сосудам сопротивления. Стенки их утолщались, внутренняя эластическая мембрана приобретала неравномерную складчатость, по сравнению с сосудами контрольной серии. Около 80% артерий этого калибра характеризовались появлением утолщённой однородной гомогенной стенки с резким уменьшением просвета, утратой характерных слоёв и замещением гладких миоцитов меди, обладающих контрактильной функцией, на балластный белковый материал (рис. *в*). Указанные морфологические маркеры являются отражением гиалиноза, постепенно развивающегося вследствие длительно протекающей артериальной гипертензии на уровне артерий сопротивления. Венозные коллекторы подслизистой основы, мышечной оболочки, адвентиции и паравезикальной клетчатки мочевого пузыря, по сравнению с контрольной серией, имели более толстую (за счёт склероза) стенку. Количество в ней гладких миоцитов и эластических волокон во внутреннем и среднем слоях резко уменьшалось, по сравнению

с контролем, где они имели достаточно мощный эластический каркас и мышечные пучки, сокращение которых в норме обеспечивало движение крови к сердцу против действия силы тяжести (рис. *d*, *e*).

Морфометрическое исследование позволило установить, что толщина меди крупных внутриорганных артерий у мужчин пожилого и старческого возраста увеличивалась в 5,2 раза, средних артерий — в 2 раза, мелких артерий — в 1,4 раза, а артериол в — 1,8 раза, по сравнению с контролем (таблица). Толщина интимы крупных артерий возрастала в 5 раз, в сравнении с контролем. Такая же тенденция отмечалась и в венозных коллекторах. В частности, в крупных венах толщина стенки увеличивалась в 4,6 раза, в средних — в 2 раза, в мелких — в 1,8 раза, в венулах — в 1,6 раза, в сравнении с контролем (таблица).

Переходный эпителий (уротелий) слизистой оболочки мочевого пузыря имел неравномерную толщину, а цитоплазма клеток выглядела светлой и вакуолизированной, что является проявлением гидропической дистрофии. Кроме дистрофических изменений эпителиоцитов, обнаруживалась и их выраженная десквамация, что свидетельствует не только об их повреждении, но и о нарушении регенерации. В собственной пластинке слизистой оболочки выявлялось разрастание грубоволокнистой соединительной ткани и наличие воспалительного инфильтрата, представленного лимфоцитами и плазматическими клетками с единичными нейтрофилами, что указывает на хронический характер воспаления. В подслизистой основе мочевого пузыря, так же как и в собственной пластинке, отмечалось разрастание грубоволокнистой соединительной ткани. В мышечной оболочке выявлялось незначительное истончение пучков гладкомышечных волокон, между которыми, по сравнению с контрольной серией, нередко определялись крупные прослойки грубоволокнистой соединительной ткани (рис. *f*) или хорошо заметная тонкопетлистая сеть, состоящая из коллагеновых волокон. В то же время количество эластических волокон, оплетающих пучки мышцы, выталкивающей мочу, уменьшалось, а оставшиеся подвергались дефрагментации.

Таблица. Толщина средней оболочки артерий и вен мочевого пузыря (в мкм) у молодых мужчин (20–30 лет) и мужчин пожилого и старческого (60–80 лет) возраста ($M \pm m$)

Table. Thickness of the tunica media of the arteries and veins of the urinary bladder (μm) in young (20–30 years) men, and older and senile (60–80 years) men ($M \pm m$)

Возраст, лет	Артерии				Вены			
	крупные	средние	мелкие	артериолы	крупные	средние	мелкие	венулы
20–30	12,0 $\pm$ 1,1	9,1 $\pm$ 0,8	5,2 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,09	7,0 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,1
60–80	62,6 $\pm$ 0,9	18,7 $\pm$ 0,3	7,3 $\pm$ 0,1	4,5 $\pm$ 0,05	23,6 $\pm$ 0,1	10,6 $\pm$ 0,1	5,6 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1
<i>p</i> -значимость	<0,001	<0,001	<0,05	<0,05	<0,001	<0,001	<0,05	<0,05

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведённых нами исследований показали, что у мужчин пожилого и старческого возраста наблюдаются изменения в различных тканевых компонентах мочевого пузыря, которые, как мы полагаем, являются морфологической основой возрастной инволюции и инициированы предшествующей перестройкой его сосудистого русла вследствие прогрессирования атеросклероза и артериальной гипертензии. В результате развития стенозирующего атеросклероза в крупных внеорганных артериях эласто-мышечного типа происходит развитие хронической ишемии стенки мочевого пузыря. Одновременно с этим выраженному ремоделированию подвергаются и внутриорганные артерии мышечного типа различного калибра. В крупных и средних артериях этого органа развиваются гиперэластоз и гипертрофия гладкой мускулатуры меди, что отражает усиление тонуса данных сосудов [14]. В более мелких артериях мочевого пузыря наблюдается морфологическая картина гиалиноза. Данный процесс обусловлен периодически наступающими гипертоническими кризами, в ходе которых возникают плазморрагия и плазматическое пропитывание интимы, а затем и меди с образованием плотной гомогенной белковой массы, замещающей все слои стенки и значительно суживающей просвет сосуда. Следовательно, сочетание и взаимное отягощение атеросклероза и ангиотонических изменений, свойственных артериальной гипертензии, в пожилом и старческом возрасте приводит к патологическим изменениям всего артериального русла мочевого пузыря — от крупных артерий до мелких сосудов сопротивления с редукцией кровотока в органе и развитием хронической гипоксии.

Наряду с этим вследствие адаптации к расстройству гемодинамики, проявляющейся ишемией стенки мочевого пузыря, в артериях крупного калибра по всей окружности интимы формируется слой из косо и продольно расположенных гладких миоцитов, сокращение которых приводит к скручиванию и значительному уменьшению, а иногда и полному закрытию просвета. В литературе такие артерии получили название замыкающих, а данный слой — функционального [14, 15]. Феномен появления миоцитов в интиме обусловлен их высокой способностью к миграции из меди через окна во внутренней эластической мембране в результате влияния различных гемодинамических стимулов [16]. Замыкающие артерии приводят к повышению сопротивления кровотоку, что позволяет переключать потоки артериальной крови в разные части детрузора в зависимости от его функциональной потребности. Следует отметить, что со временем интимальный слой замыкающих артерий подвергается склерозу, а просвет их уменьшается, что также ведёт к прогрессированию хронической гипоксии. Склеротическим и атрофическим изменениям

подвергаются внеорганные и внутриорганные венозные коллекторы, способствуя тем самым нарушению венозного оттока, усиливая тканевую гипоксию. Фактор хронической гипоксии, активируя коллагеногенез, способствует развитию склероза собственной пластинки, подслизистой основы и межмышечной соединительной ткани, что сопровождается атрофическими изменениями в детрузоре и дисбалансом в его работе. Кроме того, нарушение сосудистой трофики сопровождается повреждением уротелия со снижением его способности к нормальной регенерации, что приводит к снижению защитных свойств и неминуемо инициирует развитие хронического воспаления и склероза слизистой. Возникшие структурные изменения не могут не привести к функциональным нарушениям, лежащим в основе формирования клинической картины так называемого сенильного мочевого пузыря.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе старения человека на фоне стенозирующего атеросклероза в артериях эласто-мышечного типа, во внутриорганных крупных артериях мышечного типа наблюдаются гиперэластоз и утолщение средней оболочки, а мелкие артерии и артериолы подвергаются гиалинозу с сужением просвета и замещением всех слоёв стенки гомогенной массой. Данные изменения являются маркерами артериальной гипертензии. В результате приспособления при редуцировании кровотока в мочевом пузыре формируются замыкающие артерии, роль которых сводится к переключению транспорта артериальной крови в зависимости от функциональной потребности детрузора. Со временем в меди артерий, а также в функциональном слое замыкающих сосудов нарастает склероз, а просвет их продолжает суживаться. Вены мочевого пузыря утрачивают мощный гладкомышечный слой в стенке, подвергаются склерозу, что ведёт к затруднению оттока крови. Ремоделирование сосудистого русла мочевого пузыря приводит к атрофии детрузора, дефрагментации эластических волокон и дегенеративно-дисрегенеративным изменениям уротелия.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён

следующим образом: концепция и дизайн исследования — И.С. Шорманов; сбор и обработка материала — А.С. Соловьев; статистическая обработка данных — С.В. Куликов; анализ и интерпретация данных — С.В. Куликов, И.С. Шорманов; написание текста — С.В. Куликов.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бараненкова Т.А. Старение населения и его социально-экономические последствия // Вестник Института экономики РАН. 2017. № 2. С. 47–64.
2. Кузин С.И. Старение населения: социально-экономический аспект // Вестник университета. 2018. № 3. С. 137–143. doi: 10.26425/1816-4277-2018-3-137-143
3. Omran A.R. The epidemiologic transition: a theory of the epidemiology of population change. 1971 // *Milbank Q.* 2005. Vol. 83, N 4. P. 731–757. doi: 10.1111/j.1468-0009.2005.00398.x
4. Кусаинов А.М., Булегенов Т.А. Медико-социальные аспекты доброкачественной гиперплазии предстательной железы // Наука и здравоохранение. 2019. Т. 21, № 3. С. 30–44.
5. Корнев И.А., Алексеева Т.А., Аль-Шукри С.Х. Симптомы нижних мочевых путей у мужчин Северо-Западного региона Российской Федерации: анализ результатов популяционного исследования // Урологические ведомости. 2016. Т. 6, № 1. С. 5–9.
6. Kupelian V., McVary K.T., Kaplan S.A., et al. Association of lower urinary tract symptoms and the metabolic syndrome: results from the Boston area community health survey // *J Urol.* 2013. Vol. 189, suppl. 1. P. S107–114. doi: 10.1016/j.juro.2012.11.026
7. Taylor B.C., Wilt T.J., Fink H.A., et al.; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Research Group. Prevalence, severity, and health correlates of lower urinary tract symptoms among older men: the MrOS study // *Urology.* 2006. Vol. 68, N 4. P. 804–809. doi: 10.1016/j.urology.2006.04.019
8. Кудрявцев Ю.А., Сивков А.В. Морфологические изменения в ткани предстательной железы при доброкачественной гипер-

Author contribution. All authors confirm the compliance of their authorship, according to international ICMJE criteria (all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published). The concept and design of the study — I.S. Shormanov; collection and processing of material — A.S. Solovyev; statistical data processing — S.V. Kulikov; data analysis and interpretation — S.V. Kulikov, I.S. Shormanov; writing the text — S.V. Kulikov.

- плазии // Экспериментальная и клиническая урология. 2010. № 1. С. 18–22.
9. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Неймарк А.И., и др. Роль структурно-функциональных изменений гладкомышечных клеток детрузора и предстательной железы в развитии гиперактивного мочевого пузыря // Фундаментальные исследования. 2012. № 5–1. С. 68–73.
10. Dubeau C.E. The aging lower urinary tract // *J Urol.* 2006. Vol. 175, N 3–2. P. S11–15. doi: 10.1016/S0022-5347(05)00311-3
11. Gomes C.M., Arap S., Trigo-Rocha F.E. Voiding dysfunction and urodynamic abnormalities in elderly patients // *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo.* 2004. Vol. 59, N 4. P. 206–215. doi: 10.1590/s0041-87812004000400010
12. Pintarelli V.L., Perchon L.F., Lorenzetti F., et al. Elderly men's quality of life and lower urinary tract symptoms: an intricate relationship // *Int Braz J Urol.* 2011. Vol. 37, N 6. P. 758–765. doi: 10.1590/s1677-55382011000600012
13. Topinková E. Aging, disability and frailty // *Ann Nutr Metab.* 2008. Vol. 52, suppl. 1. P. 6–11. doi: 10.1159/000115340
14. Шорманов С.В., Новиков Ю.В., Куликов С.В. Изменение строения печени при экспериментальной коарктации аорты и стенозе легочного ствола // Морфология. 2014. Т. 146, № 6. С. 72–76.
15. Есипова И.К., Кауфман О.Я., Крючкова Г.С., и др. Очерки по гемодинамической перестройке сосудистой стенки. Москва: Медицина, 1971. 312 с.
16. Ross R., Vogel A. The platelet-derived growth factor // *Cell.* 1978. Vol. 14, N 2. P. 203–210. doi: 10.1016/0092-8674(78)90107-1

REFERENCES

1. Baranenkova T.A. Population aging and its socio-economic consequences. *Bulletin of the Institute of Economics of the Russian Academy of Sciences.* 2017;(2):47–64. (In Russ).
2. Kuzin S. The aging of the population: socio-economic aspect. *Vestnik Universiteta.* 2018;(3):137–143. (In Russ). doi: 10.26425/1816-4277-2018-3-137-143
3. Omran A.R. The epidemiologic transition: a theory of the epidemiology of population change. 1971. *Milbank Q.* 2005;83(4):731–757. doi: 10.1111/j.1468-0009.2005.00398.x
4. Kusainov A.M., Bulegenov T.A. Medical and social aspects of benign prostatic hyperplasia. *Science & Healthcare.* 2019;21(3):30–44. (In Russ).
5. Kornev I.A., Alekseeva T.A., Al'-Shukri S.H. Lower urinary tract symptoms in men of the North-West region of the Russian Federation: analysis of the results of a population study. *Urological State-ments.* 2016;6(1):5–9. (In Russ).
6. Kupelian V., McVary K.T., Kaplan S.A., et al. Association of lower urinary tract symptoms and the metabolic syndrome: results from

- the Boston area community health survey. *J Urol.* 2013;189(Suppl. 1):S107–114. doi: 10.1016/j.juro.2012.11.026
7. Taylor B.C., Wilt T.J., Fink H.A., et al.; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Research Group. Prevalence, severity, and health correlates of lower urinary tract symptoms among older men: the MrOS study. *Urology.* 2006;68(4):804–809. doi: 10.1016/j.urology.2006.04.019
8. Kudryavtsev Yu.A., Sivkov A.V. Morphological changes in prostate tissue in benign hyperplasia. *Experimental and Clinical Urology.* 2010;(1):18–22. (In Russ).
9. Lushnikova E.L., Nepomnyashchikh L.M., Neymark A.I., et al. The role of structural and functional changes in detrusor and prostate smooth muscle cells in the development of an overactive bladder. *Fundamental Research.* 2012;(5–1):68–73. (In Russ).
10. Dubeau C.E. The aging lower urinary tract. *J Urol.* 2006;175(3–2): S11–15. doi: 10.1016/S0022-5347(05)00311-3

11. Gomes CM, Arap S, Trigo-Rocha FE. Voiding dysfunction and urodynamic abnormalities in elderly patients. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo*. 2004;59(4):206–215. doi: 10.1590/s0041-87812004000400010
12. Pintarelli VL, Perchon LF, Lorenzetti F, et al. Elderly men's quality of life and lower urinary tract symptoms: an intricate relationship. *Int Braz J Urol*. 2011;37(6):758–765. doi: 10.1590/s1677-55382011000600012
13. Topinková E. Aging, disability and frailty. *Ann Nutr Metab*. 2008;52(Suppl. 1):6–11. doi: 10.1159/000115340
14. Shormanov SV, Novikov YuV, Kulikov SV. Changes in the structure of the liver during experimental coarctation of the aorta and stenosis of the pulmonary trunk. *Morphology*. 2014;146(6):72–76. (In Russ).
15. Esipova IK., Kaufman OYa, Kryuchkova GS, et al. *Essays on the hemodynamic restructuring of the vascular wall*. Moscow: Meditsina; 1971. 312 p. (In Russ).
16. Ross R, Vogel A. The platelet-derived growth factor. *Cell*. 1978;14(2):203–210. doi: 10.1016/0092-8674(78)90107-1

ОБ АВТОРАХ

* **Куликов Сергей Владимирович**, д.м.н., доцент;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3331-8555>;
e-mail: kulikov268@yandex.ru;
eLibrary SPIN: 8894-6060

Шорманов Игорь Сергеевич, д.м.н., профессор;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2062-0421>;
e-mail: i-s-shormanov@yandex.ru;
eLibrary SPIN: 7772-8420

Соловьев Андрей Сергеевич, к.м.н., ассистент;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5612-3227>;
e-mail: a-s-soloviev89@yandex.ru;
eLibrary SPIN: 8198-2122

AUTHOR INFO

* **Sergey V. Kulikov**, MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3331-8555>;
e-mail: kulikov268@yandex.ru;
eLibrary SPIN: 8894-6060

Igor S. Shormanov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;
e-mail: i-s-shormanov@yandex.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2062-0421>;
eLibrary SPIN: 7772-8420

Andrey S. Soloviyev, MD, Cand. Sci. (Med.), Assistant;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5612-3227>;
e-mail: a-s-soloviev89@yandex.ru;
eLibrary SPIN: 8198-2122

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author