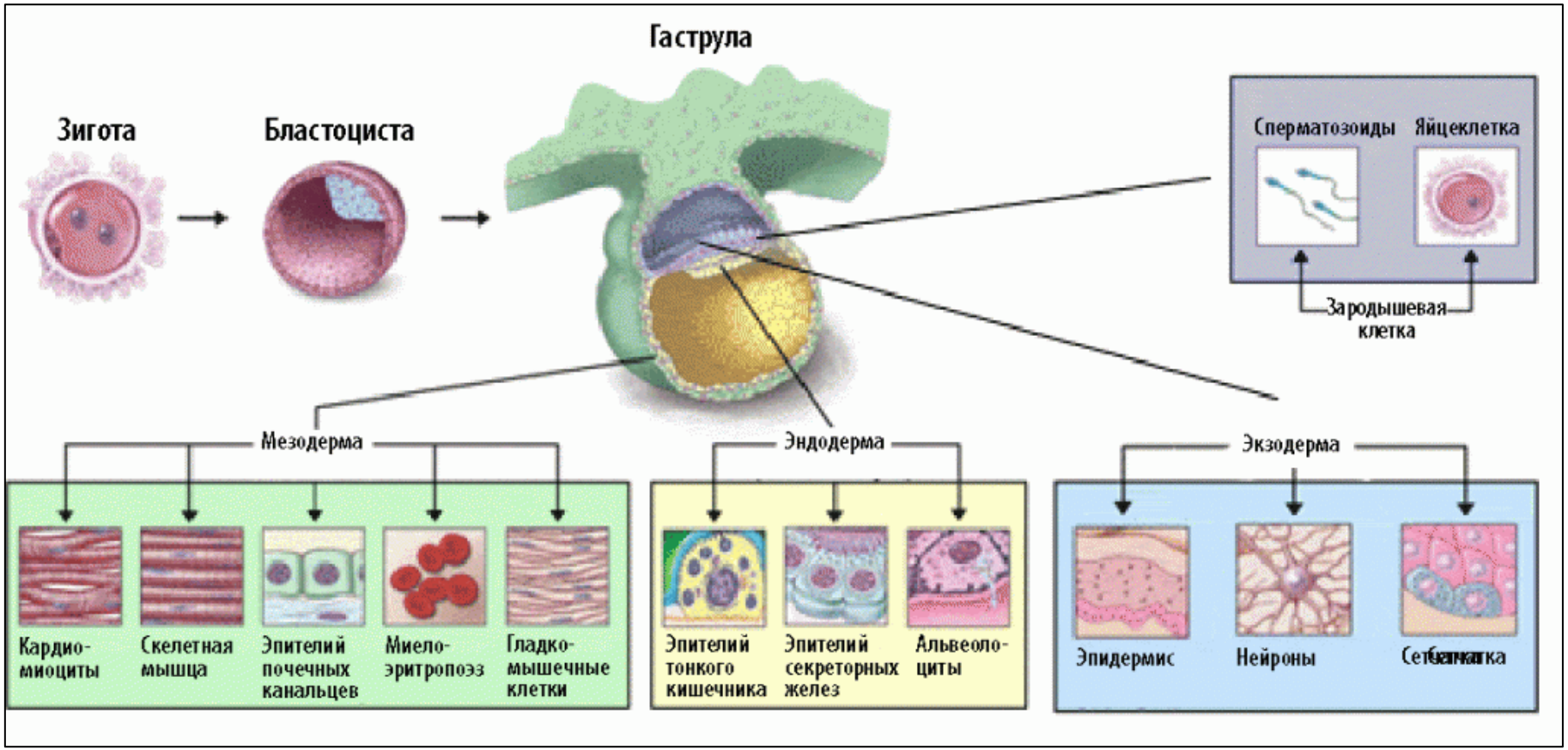
Лекция 3.
Медицинская эмбриология, гисто- и органогенез. Механизмы гистогенеза. Дифференцировка стволовых клеток. Клеточный тип.

Зародышевые листки, их производные



Морфогенез

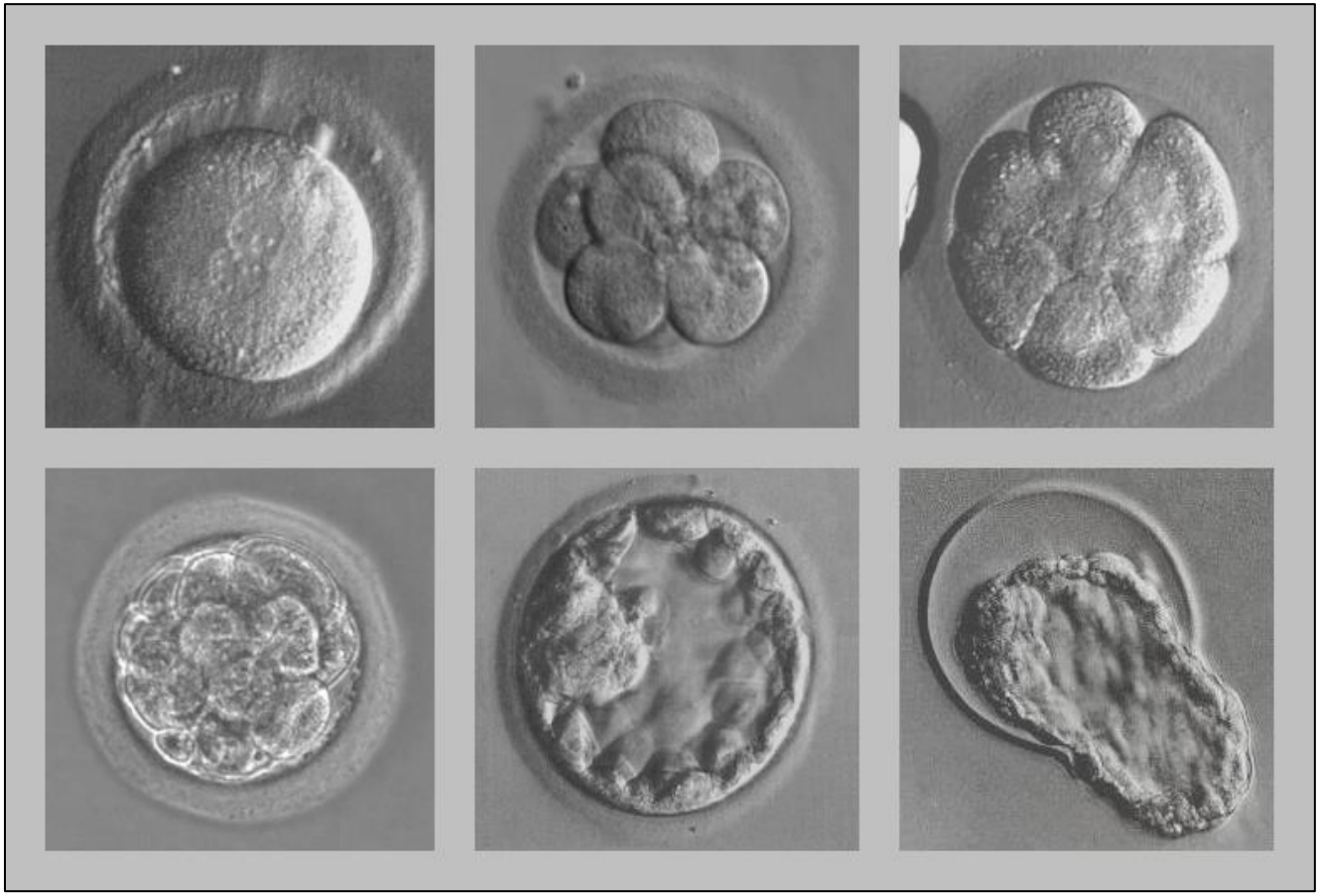
- процесс филоонтогенетически обусловленного прогрессивного развития живой материи на различных уровнях ее структурной организации в составе целостного организма.

Основные морфогенетические процессы:

1) Размножение клеток
2) Детерминация
3) Дифференцировка
4) Индукция
5) Интеграция
6) Клеточные перемещения (миграция)
7) Апоптоз

1. Размножение клеток

- Происходит увеличение численности клеточных популяций
- **Важно!** Равномерное распределение хромосом между дочерними клетками
- **Процессы:**
- Митоз, дробление (ряд последовательных митотических делений)

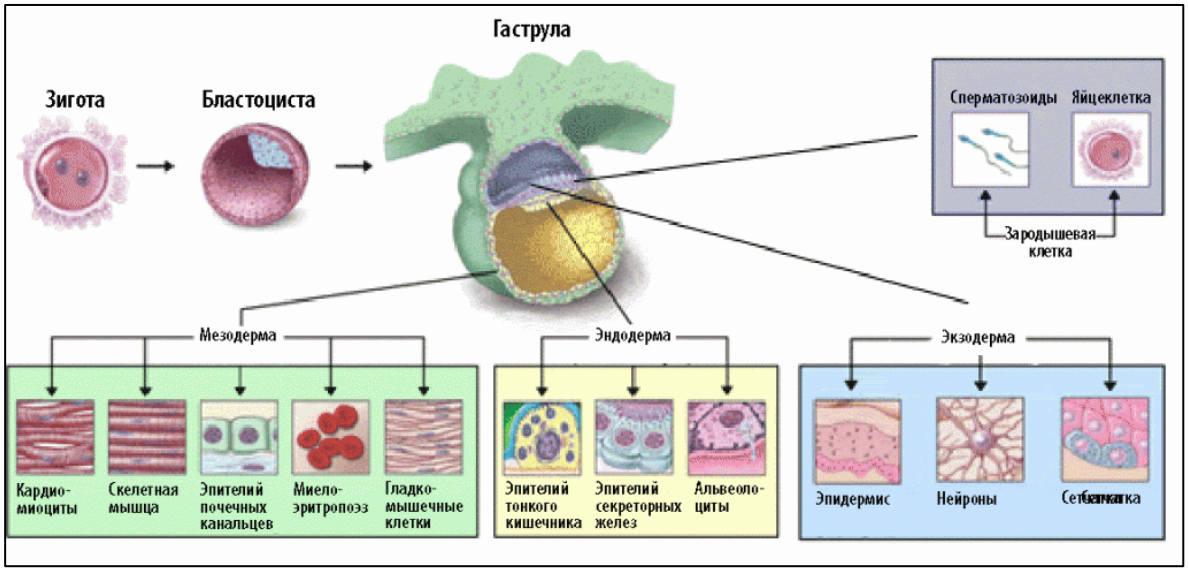


2. Детерминация

- генетическое предопределение пути развития.
- В эмбриогенезе происходит последовательное репрессирование активных локусов генома и постепенное сужение спектра возможностей дифференцирования.

- **Уровни детерминации в ходе эмбриогенеза:**

1) Овотипический (оотипический)
2) Бластомерный
3) Зачатковый (листковый)
4) Тканевой

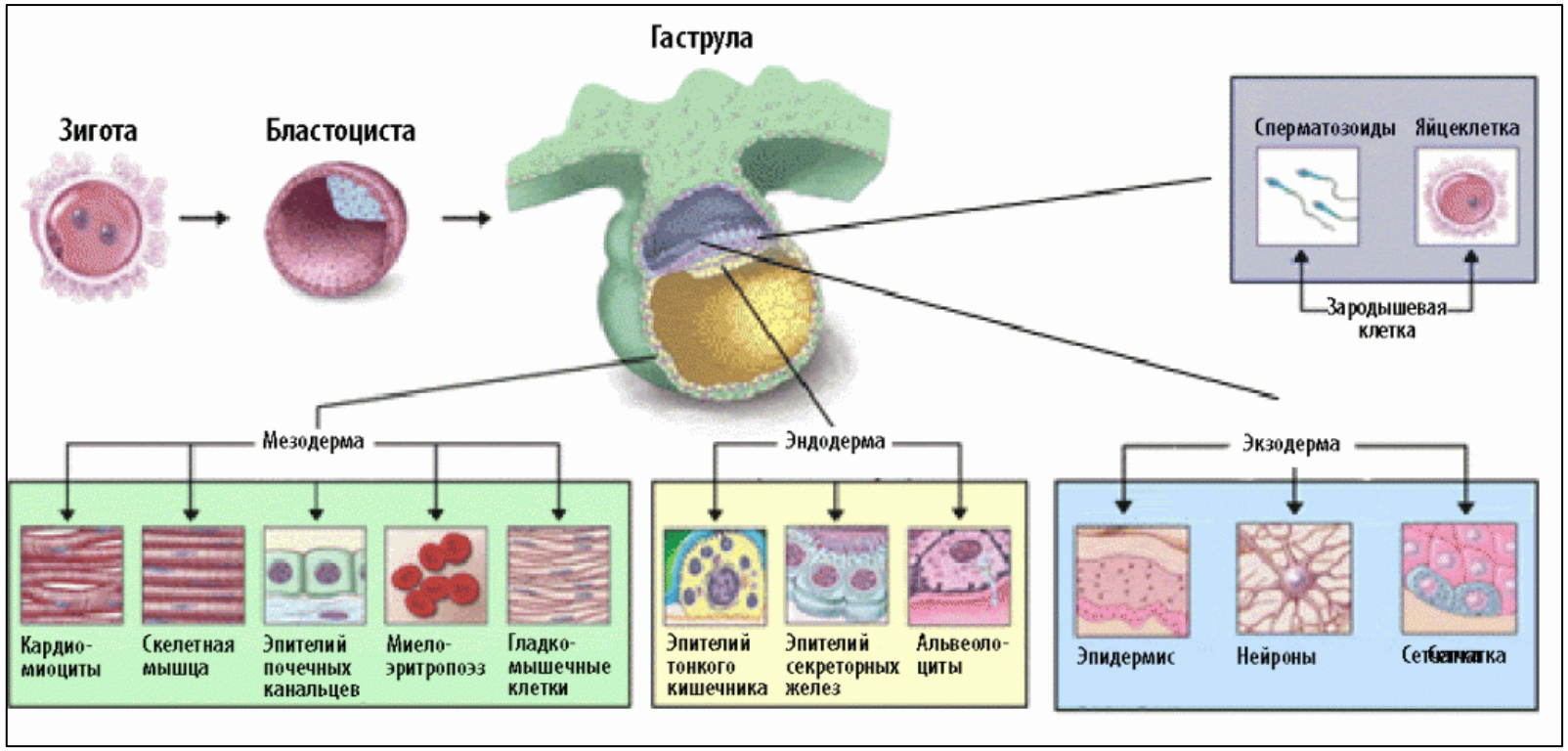


Генетическая детерминированность дифференцировки.

Обыкновенная губка *Xestospongia testudinaria*

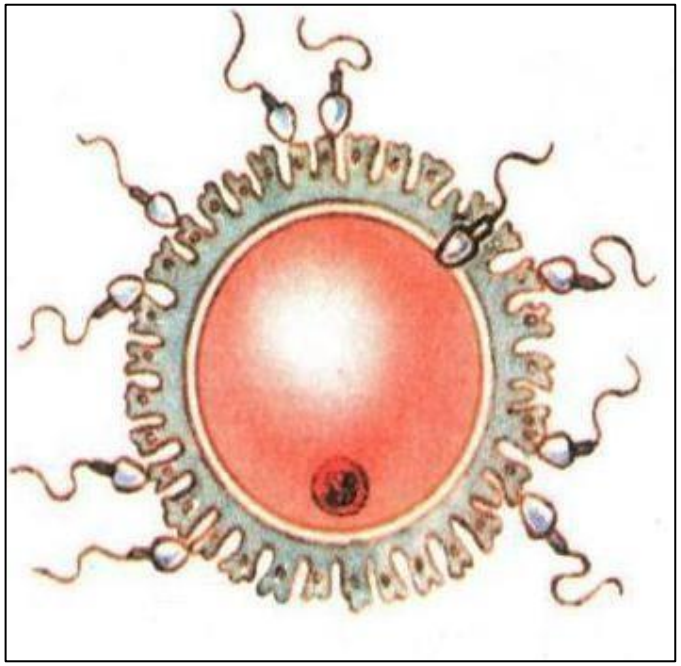
3. Дифференцировка

- Генетически управляемый процесс клеточной специализации.
- Обеспечивается появлением в клетке органелл (в том числе специальных), которые определяют способность клетки к функционированию.

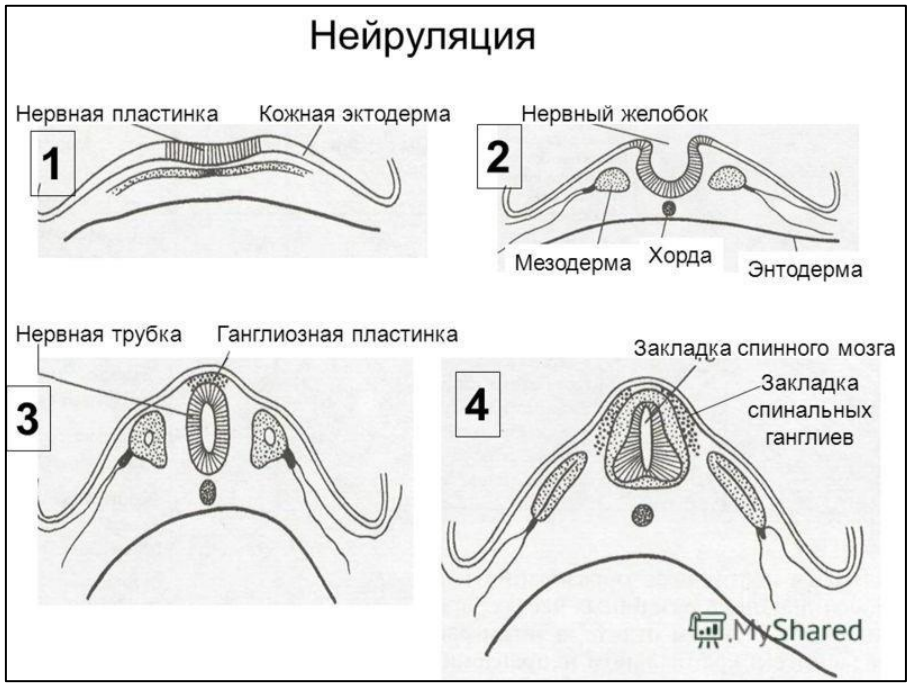


4. Индукция

- Влияние одних эмбриональных субстратов (клеток, зачатков или тканей) на процессы развития и дифференцировки других эмбриональных субстратов благодаря выработке низко молекулярных факторов регуляции морфогенеза.



сперматозоид активизирует метаболизм яйцеклетки



хордо-мезодермальный комплекс является стимулятором дифференцировки эктодермы на кожную часть и нейроэктодерму

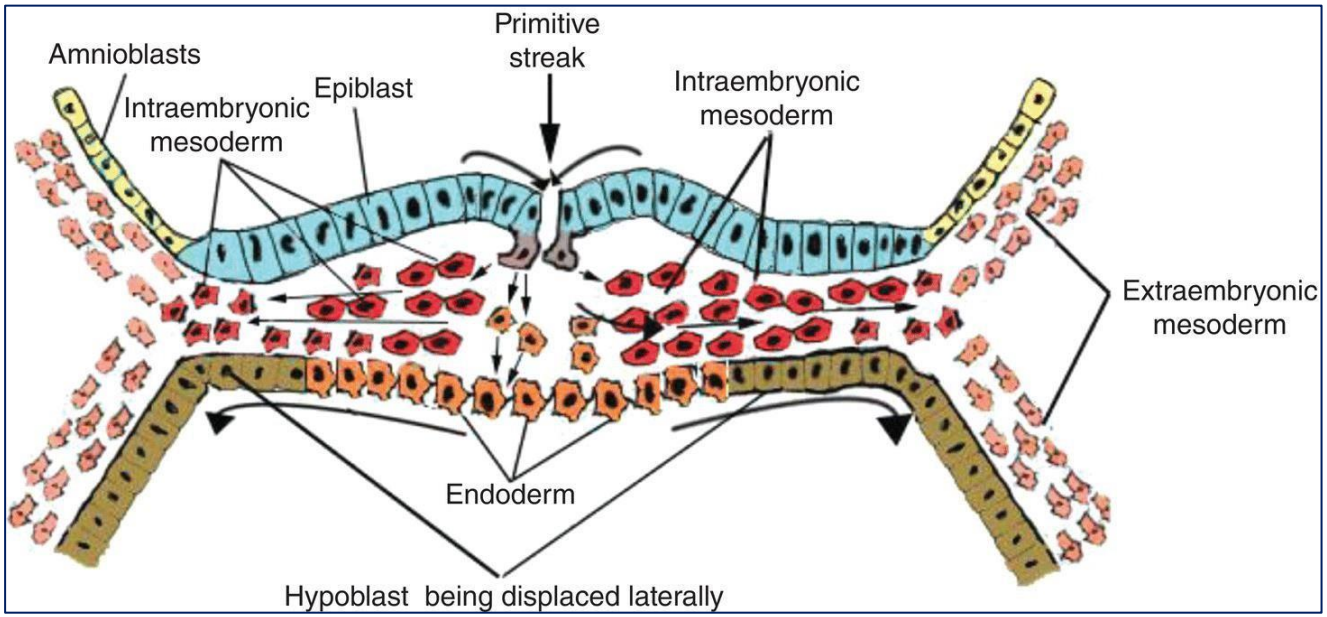
5. Интеграция

- Объединение субстратов различных уровней организации живой материи в системы более высоких уровней

Структуры субклеточных уровней в процессе интеграции образуют клетки, интеграции клеток создают ткани, интеграции тканей – органы.

6. Клеточные перемещения

- Определяются совокупностью многих факторов жизнедеятельности клеток: различные уровни метаболизма, неодинаковость митотической активности, межклеточные контакты разных степеней прочности, индукции и т.д.



Клетки могут перемещаться:

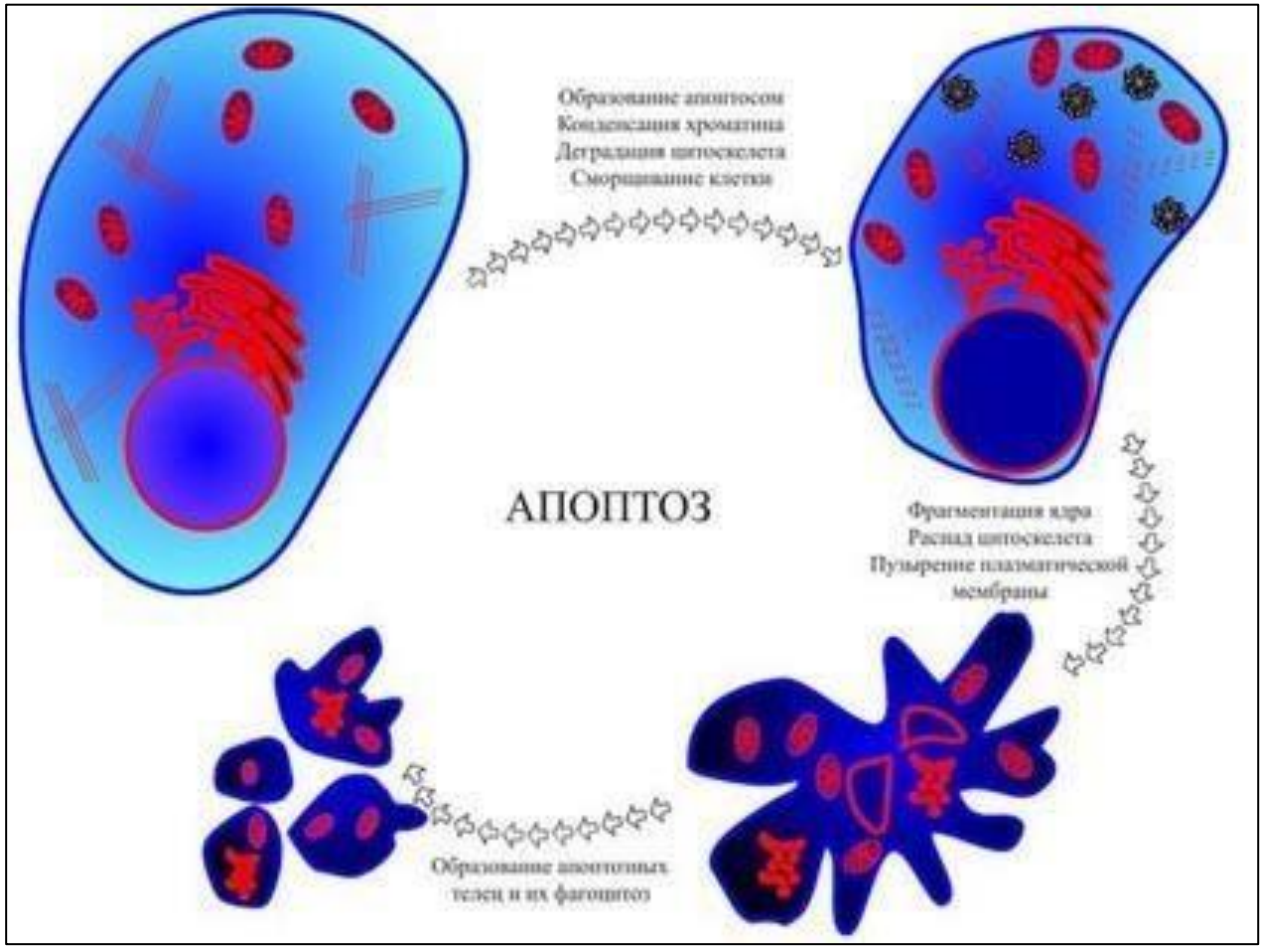
А) в свободном состоянии путем иммиграции (выселения)

Б) в составе клеточных пластов путем:

- Деламинации (расщепления)
- Инвагинации (впячивания)
- Эпиболии (обрастания)

7. Апоптоз

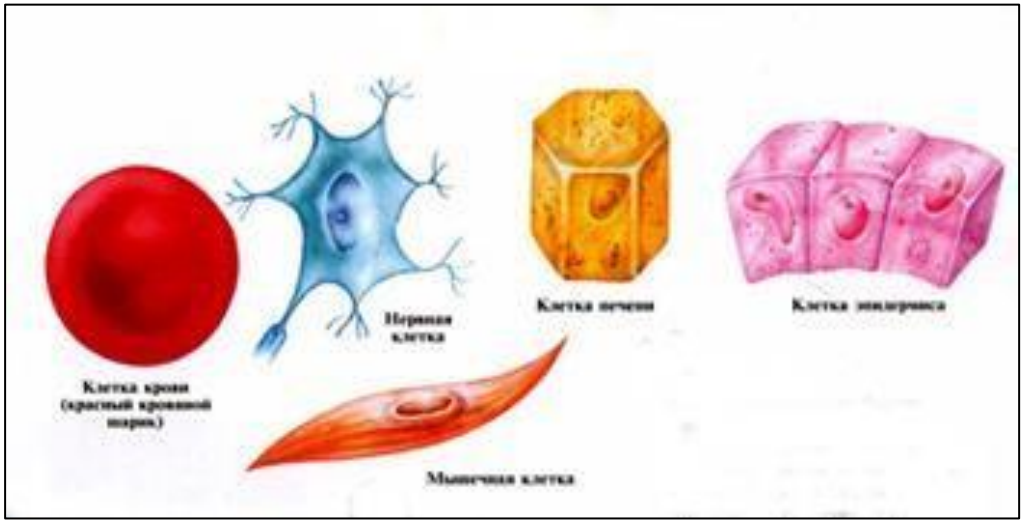
- Генетически запрограммированная смерть клетки является неотъемлемым компонентом многих стадий эмбриогенеза.



Дифференцировка в условии *in vitro*

Свойства клеток

- **Конститутивные** (постоянно экспрессируемые без дополнительной индукции)
- **Адаптивные** (подверженные положительной и отрицательной регуляции экспрессии)



Дифференцировка

- Это процесс, ведущий к проявлению фенотипических свойств, характерных для функционально зрелых клеток этого типа.

Дифференцировка может быть:

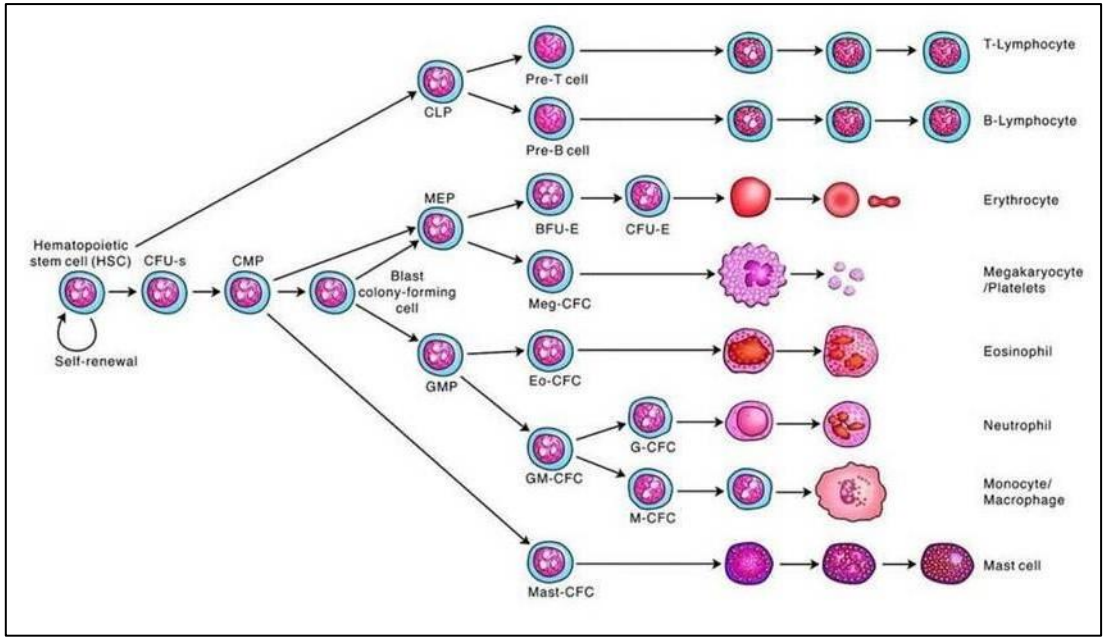
1) **Необратимая** (прекращение синтеза ДНК в ядре эритробласта или зрелого кератиноцита)

2) **Обратимая** (индукция синтеза альбумина в дифференцированных гепатоцитах, которая часто утрачивается в культуре)

Коммитирование

– необратимый переход клетки из стадии стволовой в специфическую линию дифференцировки, завершающуюся формированием клетки, способной проявлять ограниченный набор свойств, конститутивных и индуцируемых.
- клетка или ее предшественник больше не может превращаться в другую.

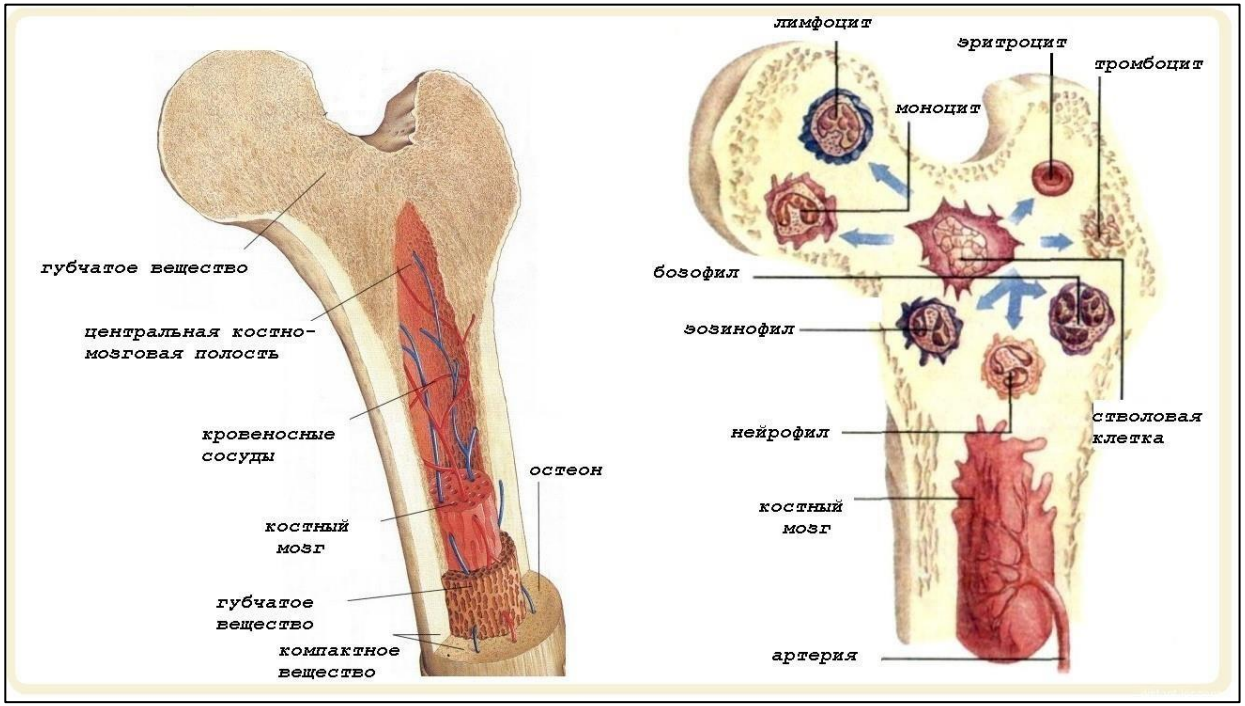
Пример: ГСК после коммитирования лимфатической дифференцировки не будет изменять линию дифференцировки не приобретет характеристики миелоидного или эритроидного ряда.



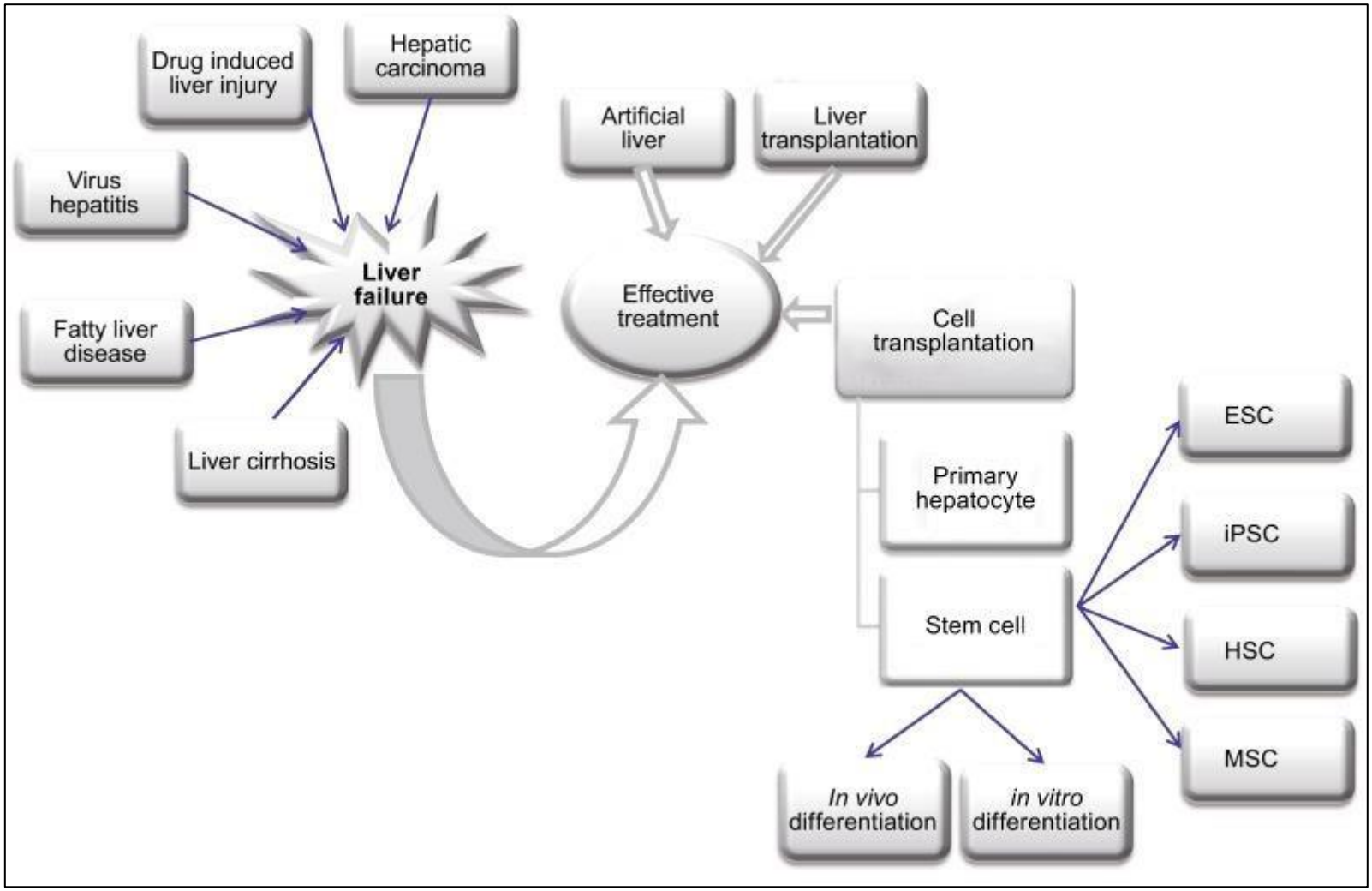
Коммитирование

Чем выше степень коммитирования, тем выше вероятность того, что стволовая клетка будет располагаться в специфической ткани и будет снижаться способность клетки к разным направлениям дифференцировки.

Например, ГСК – костный мозг, стволовые клетки энтероцитов – на дне крипт кишечника, стволовые клетки кератиноцитов – в эпидермисе.

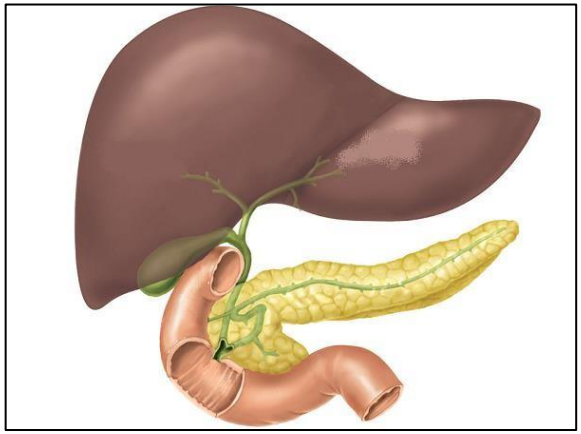


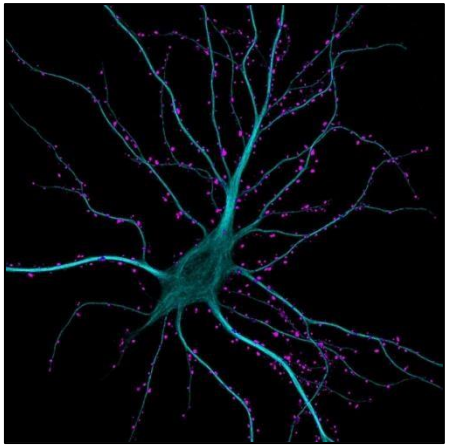
Коммитирование



Трансдифференцировка

- переход клеток из одной линии в другую.
Пример: регенерация хрусталика амфибий с помощью клеток радужной оболочки глаза.
Встречается среди опухолевых клеток – мелкоклеточная карцинома легких может переходить в сквамозную или крупноклеточную карциному.

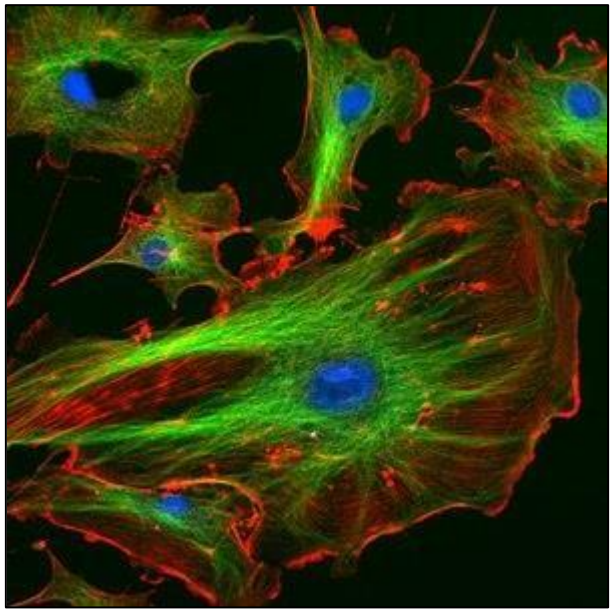




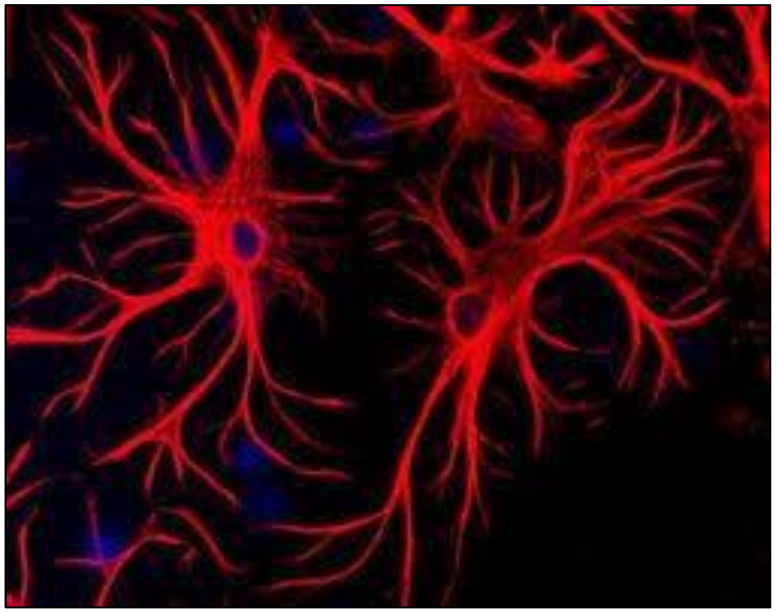
СК печени – нервные клетки [Deng et al., 2003]
СК костного мозга – миоциты [Mangi et al., 2003]
Мышечные СК – гематопоэтические клетки [Cao et al., 2003]
СК нервной системы – эндотелий [Wurmser et al, 2004].

Линейные маркёры дифференцировки

- маркёры, которые начинают экспрессироваться на начальных этапах дифференцировки и сохраняются на протяжении последующих стадий созревания.
- необходимы для подтверждения клеточной идентичности



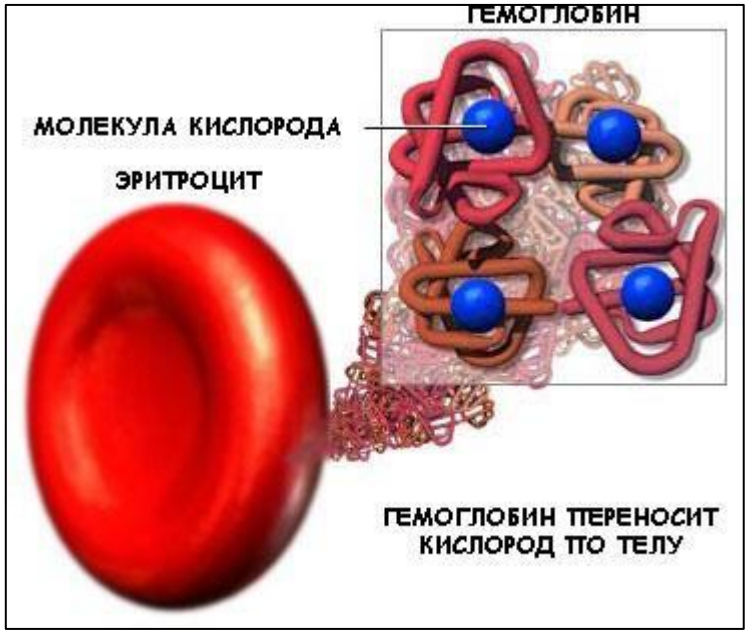
белки промежуточных филаментов цитоскелета (эпителий)

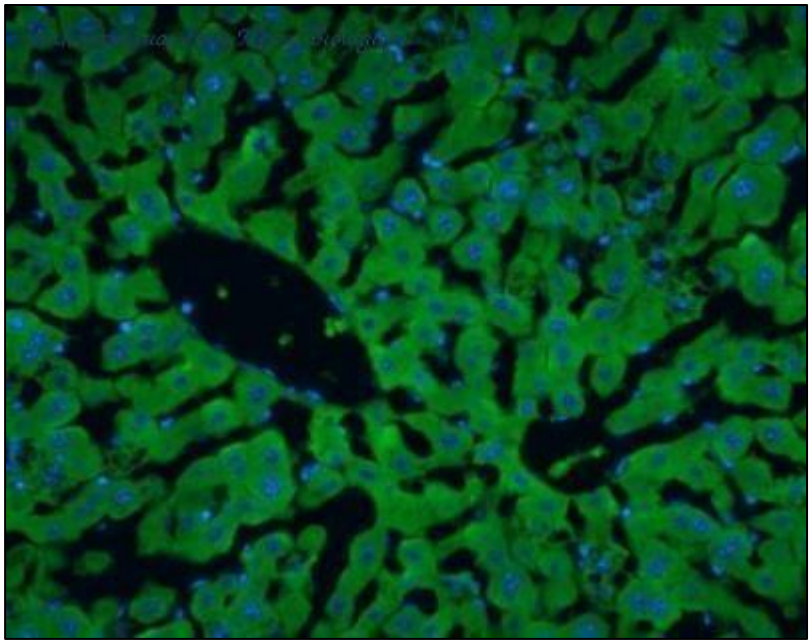


глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP) – астроциты

Маркёры зрелого фенотипа

- Специфичные клеточные продукты или ферменты, участвующие в синтезе этих продуктов на конечной стадии дифференцировки.
- Необходимы для установления терминальной дифференцировки и подтверждения происхождения клеток.





- гемоглобин в эритроцитах

сывороточный альбумин в гепатоцитах

Основные параметры, регулирующие процесс дифференцировки:

1. Межклеточное взаимодействие
2. Взаимодействие клетки с матриксом
3. Форма клеток и полярность
4. Давление кислорода
5. Растворимые системные факторы

Межклеточные взаимодействия

- **Гомотипичные**

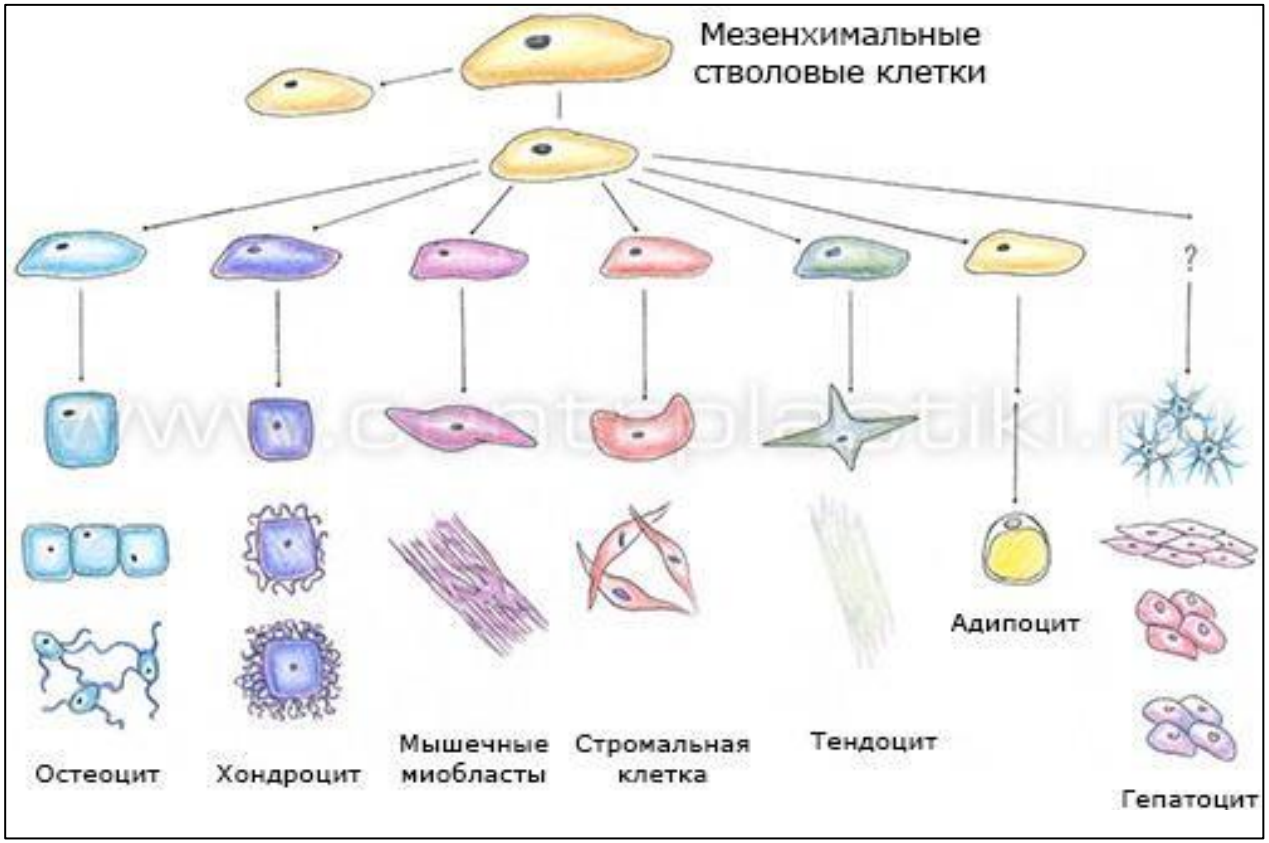
- Взаимодействие между ***гомологичными клетками*** и возникает при высокой клеточной плотности
- Скорее ***согласует*** дифференцировку сходных клеток, чем инициирует ее

- **Гетеротипичные**

- Взаимодействие ***гетерологичных клеток*** (клетки мезодермального и эндо-/эктодермального происхождения)
- Отвечает за ***инициацию и прохождение дифференцировки***

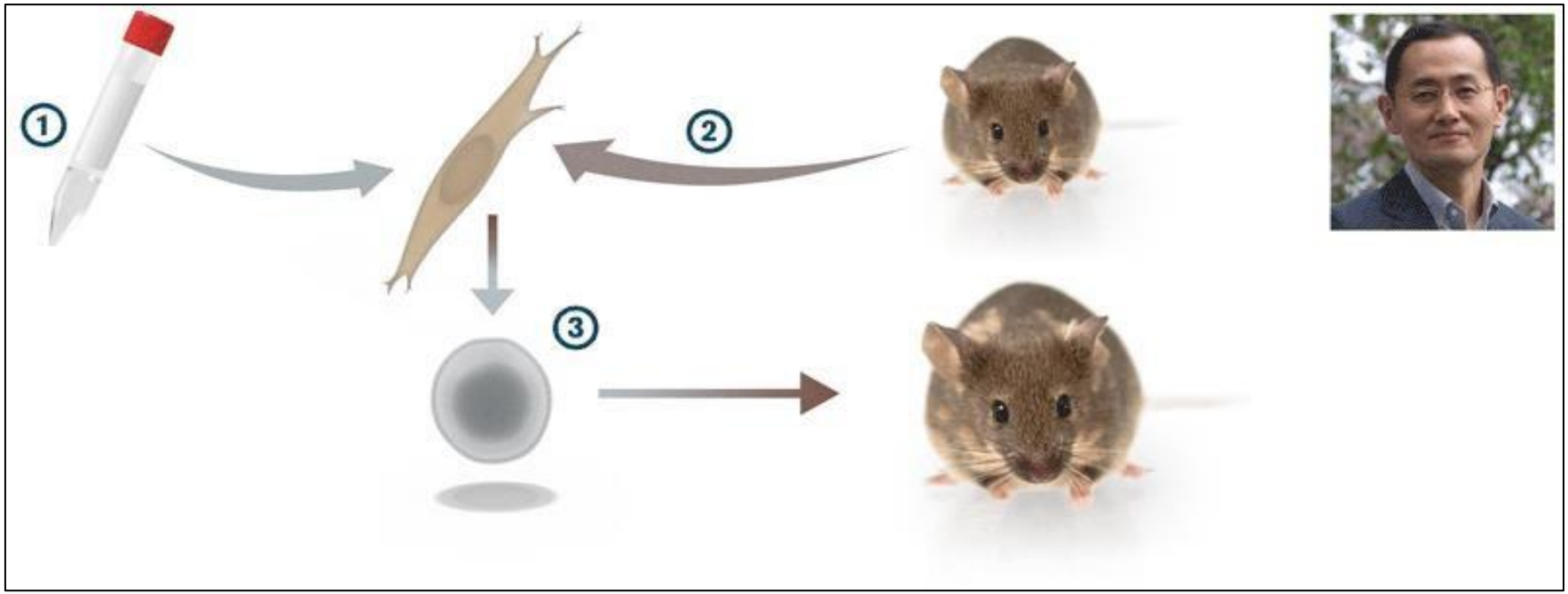
Терминальная дифференцировка

Терминальная дифференцировка предполагает, что дифференцированная клетка прошла дифференцировку по определенной линии до некоторой точки, в которой фенотип зрелой полностью выражен и дальнейших изменений не предполагается.



Дедифференцировка

- Утрата специфических фенотипических свойств клеток некоторой ткани при ее озлокачествлении или при ее росте в культуре.

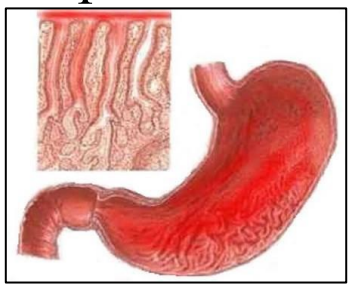


Способ перепрограммирования специализированной клетки в стволовую. Начиная с набора 24 транскрипционных факторов и постепенно сужая этот перечень (1), Такахаши и Яманака установили, что всего четыре гена (Myc, Oct3/4, Sox2 и Klf4) могут преобразить фибробласт, вернув его в состояние плюрипотентности (2).

Главные пути дифференцировки во взрослом организме

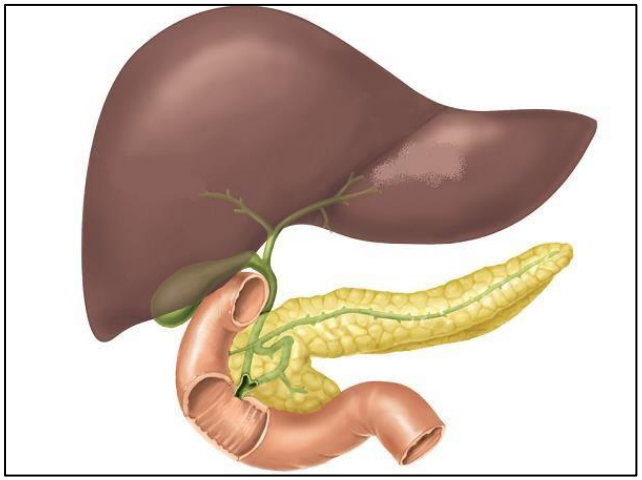
Наличие небольшой популяции **тотипотентных и плюрипотентных недифференцированных стволовых клеток**, способных к самовозобновлению и, в зависимости от потребностей организма, развиваться до стадии конечной дифференцировки, теряя при этом способность к делению.

- клетки эпидермиса, слизистой кишечника и кроветворной ткани



Зрелые клетки способны повторно вступать в деление, тогда как в стадии покоя наблюдается невысокий уровень пролиферации

- фиброциты, гепатоциты
- быстрая регенерация, так как относительно большая популяция клеток включается в процесс



Пролиферация и дифференцировка

В большинстве клеточных систем клеточное деление несовместимо с выраженностью дифференцированных свойств.

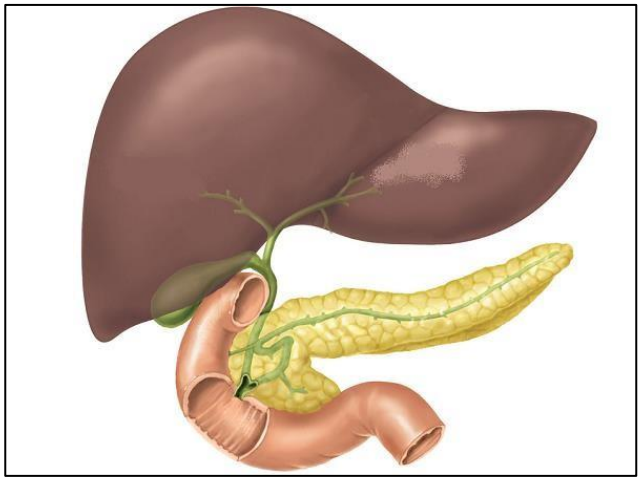
Исключение – опухолевые клетки меланомы (они продолжают синтезировать меланин в ходе пролиферации клеток).

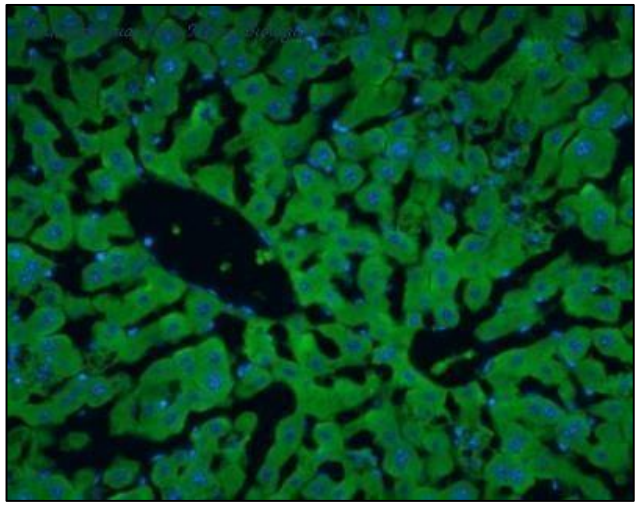
Проблема при культивировании клеток *in vitro*:

- Большинство клеточных линий не проявляют полностью фенотипических дифференцированных свойств (так как главные задачи культивирования – размножение и распространение клеток).

Необходимо! – определение индивидуального влияния условий, в которых находятся клетки *in vivo*, и создание специального микроокружения для восстановления дифференцированного фенотипа в чистой популяции клеток.

NB! Межклеточное взаимодействие!

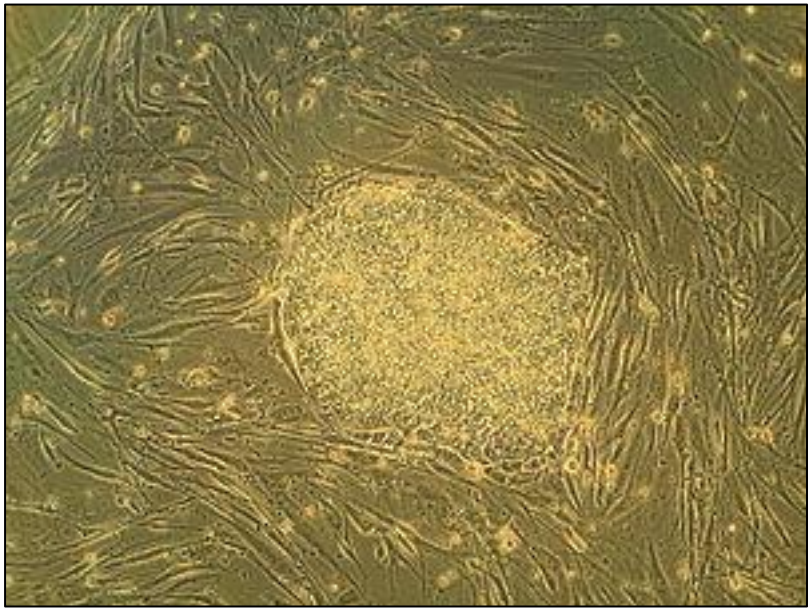




Паракринные факторы роста

Миокардиоциты остаются недифференцированными и делятся в сыворотке и присутствии bFGF, но дифференцируются в отсутствии сыворотки [Goldman and Wurzel, 1992].

Спонтанная дифференицровка ЭСК может быть предотвращена действием bFGF, SCF(фактор стволовых клеток, stem cell factor) и LIF (фактор ингибирования лимфоцитов, lymphocyte inhibitory factor). ЭСК пролиферируют и не дифференцируются.



Системные или экзогенные факторы

- **Физиологические индукторы**

1) Гормоны (гидрокартизон, тироксин, глюкагон)
2) Витамины (витамин D3 и ретиноевая кислота)
3) Неорганические ионы (ионы кальция)

- **Нефизиологические индукторы**

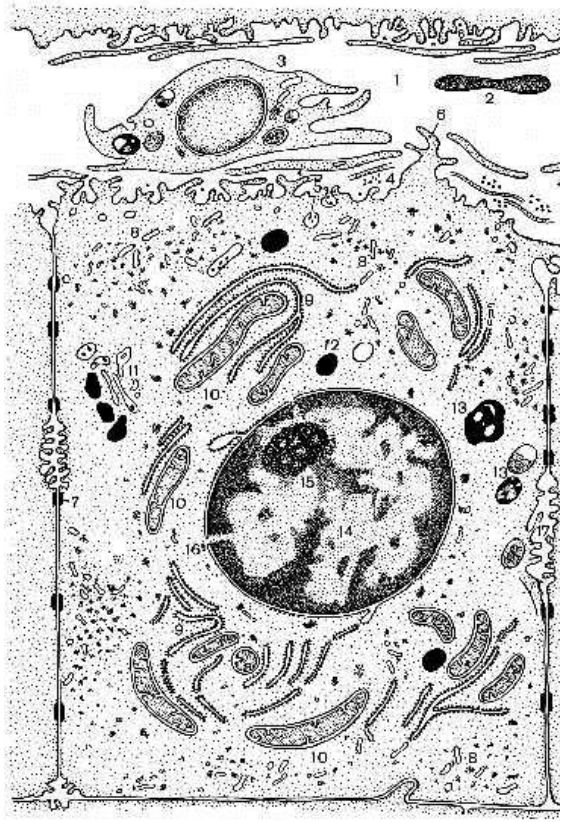
- ДМСО
- Бутират натрия
- Бензодиазепины
- Метотрексат
- Митомицин С

Взаимодействия клеток с матриксом

1. Изменяя состав искусственного матрикса внесением различных веществ, можно ***регулировать экспрессию*** генов.
Например:
- Добавление матриксного материала, выделенного из печени, вызывает экспрессию гена альбумина в гепатоцитах.
- Коллаген важен для экспрессии функциональных генов многих эпителиальных клеток и эндотелия при созревании капилляров.

2. Матрикс **модулирует активность факторов роста**
- Протеогликаны матрикса могут связываться с определенными факторами роста и делать их более доступными для расположенных поблизости клеток.

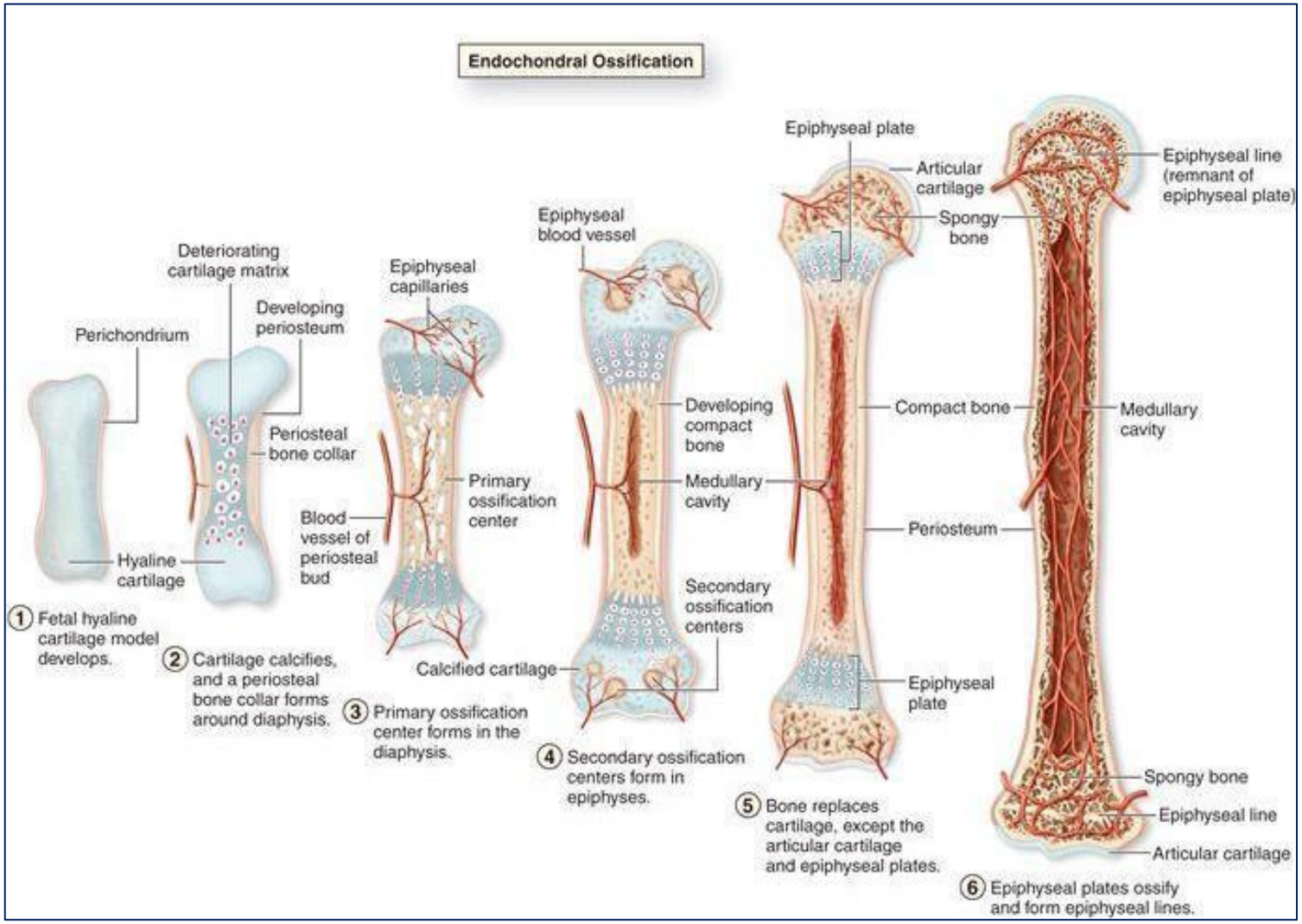
Полярность и форма клетки



Давление кислорода

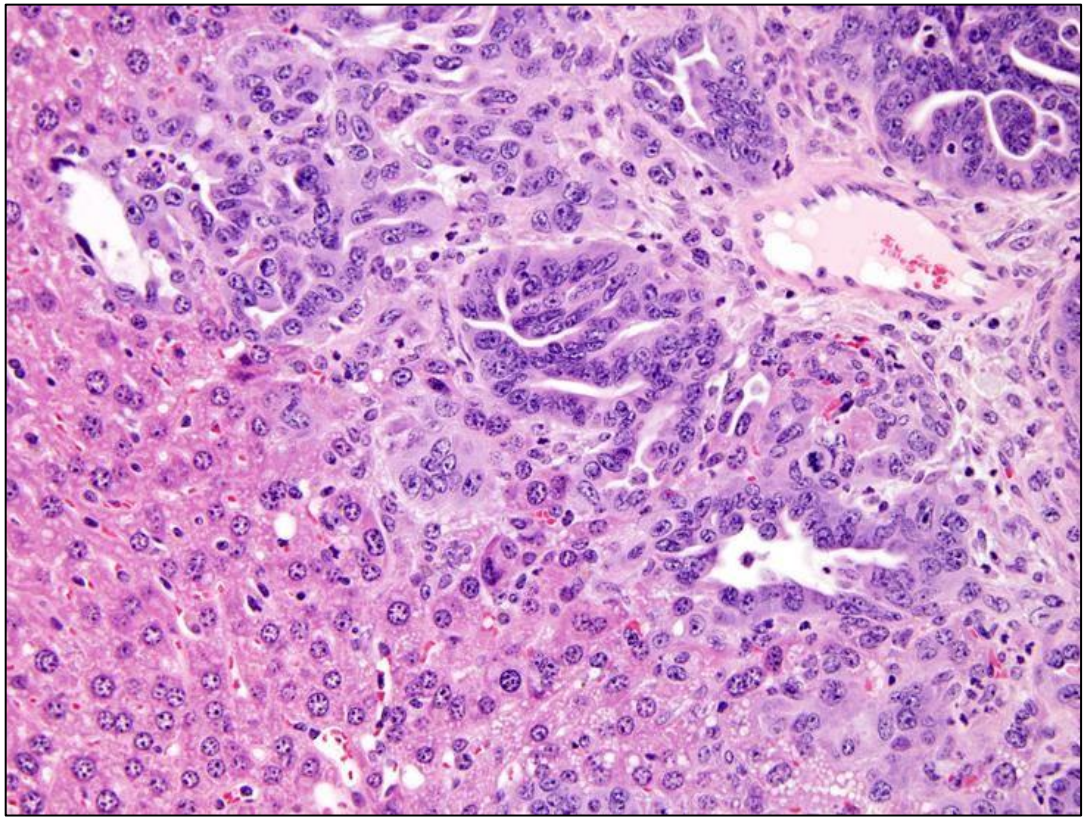
Расположение клеток на границе раздела жидкой и газовой фаз улучшает газовый обмен, облегчает захват кислорода без повышения парциального давления и риска образования свободных радикалов.

Давление кислорода – остеогенез или хондрогенез



Дифференцировка и злокачественность

Рак – результат нарушения способности клеток к нормальной дифференцировке. Больные с малодифференецированными опухолями обычно имеют более низкую выживаемость.



Гисто- и органогенез.

- **Гистогенез** – генетически детерминированное образование и развитие тканей. Образование и развитие тканей в эмбриональном периоде – эмбриональный гистогенез.

- **Ткань** – сложившаяся в процессе филогенеза способная к жизнедеятельности в составе целостного организма интеграция клеточных дифферонов и их неклеточных производных, объединенных общностью происхождения, развития, строения и функции.

Гисто- и органогенез.

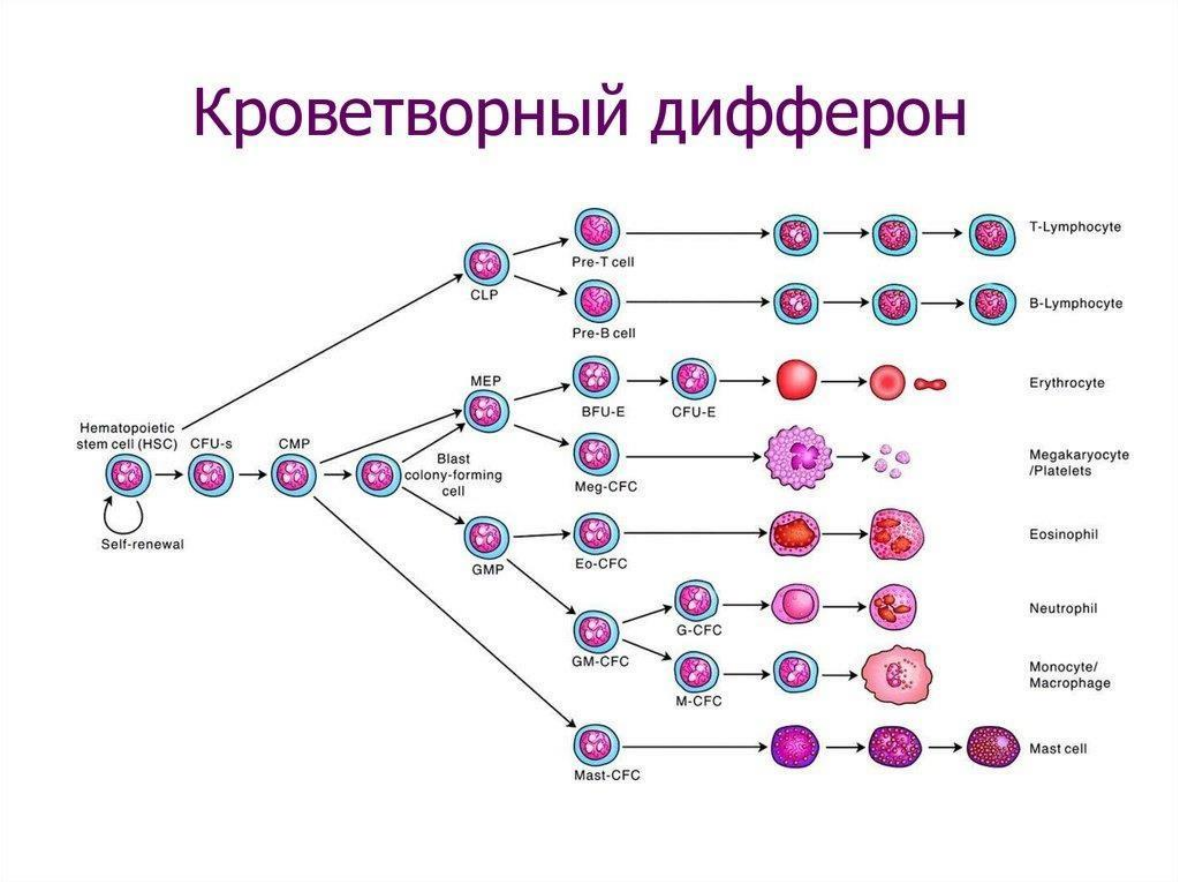
Органогенез – конечная стадия эмбриогенеза, заканчивается к 8-9 нед. Внутриутробной жизни человека и характеризуется формированием органов.

Органы этого периода онтогенеза делятся **на две группы**:
1)Основные (дефинитивные) – постоянные внутренние органы (мозг, желудок, печень и т.д.). Эти органы проходят закономерное постэмбриональное совершенствование (в том числе и в послеродовом периоде). Нередко полной морфофункциональной зрелости они достигают к 18-20 годам.

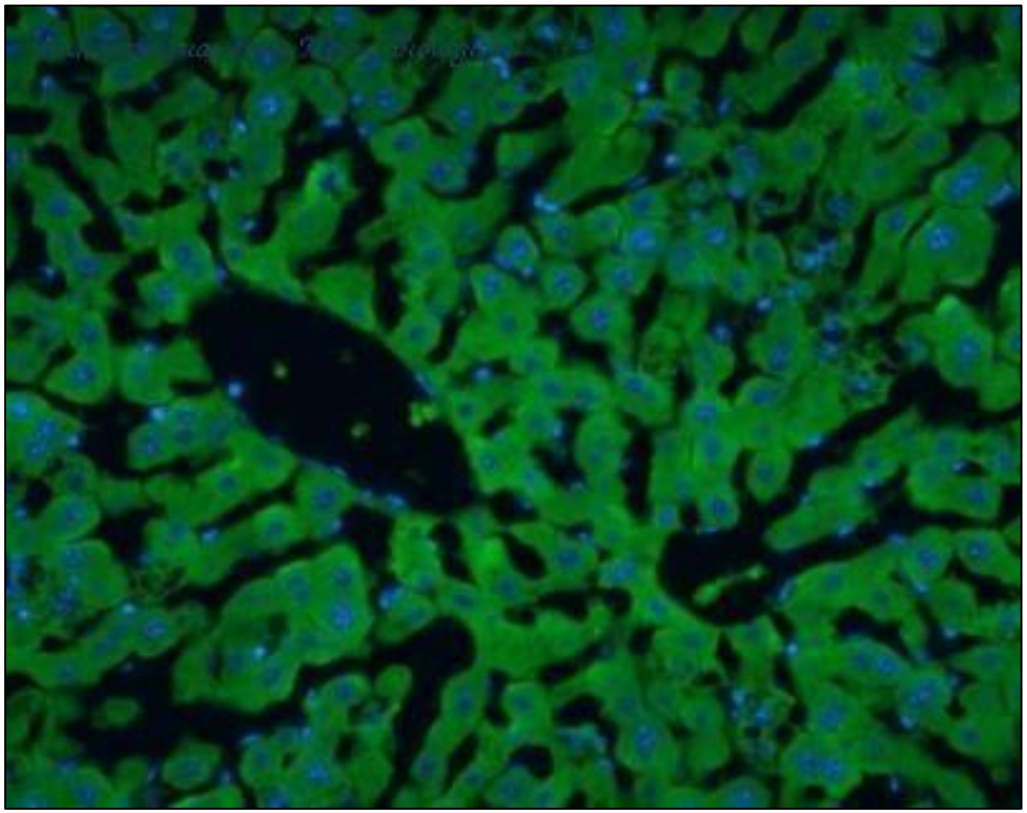
2)Провизорные (временные) – временные вспомогательные органы, которые обеспечивают жизнедеятельность организма только во внутриутробном периоде (желточный мешок, аллантоис, амнион, хорион, плацента). После выполнения своих функций эти органы либо редуцируются (желточный мешок и аллантоис), либо отпадают в процессе родов (амнион, плацента).

Дифферон: его состав и характеристика.

ДИФФЕРОН – совокупность клеточных форм, составляющих ту или иную линию дифференцировки. Цепь различных типов популяций (стволовые клетки, делящиеся клетки, простые транзитные клетки), т.е. гистогенетический ряд.



Условия, необходимые для индукции дифференцировки

1 – высокая плотность клеток
2– усиление межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий
3– присутствие различных факторов дифференцировки

Специфические функции клеток сохраняются дольше, когда сохранена трехмерная структура первичной ткани