

В предыдущей публикации был представлен краткий обзор стволовых клеток человека. В этой статье будут рассмотрены стволовые клетки кожи и фибробласты, с акцентом на последних, так как именно они играют ключевую роль в самообновлении кожи — процессах, на которых сфокусировано основное внимание косметологов.

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КОЖИ и фибробластический дифферон



АЛЛА ЗОРИНА,

к.м.н., врач-биохимик, главный специалист отдела регенеративной медицины Института стволовых клеток человека (ИСКЧ)

ВАДИМ ЗОРИН,

к.б.н., врач-биофизик, руководитель отдела регенеративной медицины ИСКЧ
Москва

Стволовые клетки содержатся во всех тканях человека, поскольку именно эти клетки отвечают за поддержание численности и гомеостаза специфических для каждой ткани клеточных популяций. Для кожи и ее придатков (потовых и сальных желез, волосяных фолликулов), органа, в котором постоянно происходят процессы регенерации, обладание таким важным инструментом самообновления, как стволовые клетки, особенно важно.

Эпидермальные стволовые клетки

Эпидермальные стволовые клетки (ЭСК) локализуются в специфических нишах в межфолликулярном (интерфолликулярном) эпидермисе, сальных железах и в верхней части волосяных

фолликулов — в области *bulge* (от англ. *bulge* — утолщение, выпуклость). И, соответственно, благодаря ЭСК происходят процессы регенерации эпидермиса, сальных желез и волосяных фолликулов [1, 2]. ЭСК межфолликулярного эпидермиса, расположенные в нишах на базальной мембране, отвечают за обновление эпидермиса. ЭСК волосяных фолликулов обеспечивают восстановление волос, они принимают участие и в регенерации эпидермиса, но только в случае серьезного нарушения целостности кожи (после ожогов или других обширных повреждений). Отмечено, что при поверхностных ожогах, оставляющих неповрежденные фолликулы, но разрушающих межфолликулярный эпидермис, не требуется пересадки кожи. Однако после глубоких ожогов, повреждающих волосяные фолликулы, это

необходимо, так как самовозобновление эпителия не происходит, за исключением его роста у краев раны [3].

ЭСК зоны *bulge* волосяного фолликула обладают мультипотентным потенциалом и способны дифференцироваться в клетки межфолликулярного эпидермиса, волосяных фолликулов, а также клеток сальных и потовых желез [3, 5].

Эпидермальные стволовые клетки межфолликулярного эпидермиса

Основными клетками эпидермиса являются кератиноциты, гомеостаз которых поддерживается за счет пролиферации клеток базального слоя, непосредственно прилегающего к базальной мембране. В эпидермисе человека различают две популяции пролиферирующих клеток: ЭСК (могут составлять до 10%

клеток базального слоя) и ТАК (транзиторных амплифицирующих клеток — прогениторных коммитированных клеток). ТАК представляют собой дочернее поколение ЭСК, которые, прежде чем окончательно дифференцироваться, еще способны совершить от двух до четырех циклов деления [2, 3, 5]. Как только ТАК теряют связь с базальной мембраной, они выходят из клеточного цикла и начинают реализовывать программу своей конечной дифференциации в кератиноциты. (Перемещаясь к наружному слою эпидермиса ТАК «созревают», их цитоплазма заполняется белком кератином.) Кератиноциты образуют шиповатый слой, затем гранулярный и, в конечном счете, теряя ядро и превращаясь в корнеоциты (роговые чешуйки), заполненные кератином, формируют роговой слой (рис. 1) [2]. Ороговевшие клетки постоянно слущиваются с поверхности кожи, что, естественно, требует образования новых дифференцированных клеток. Очевидно, что пролиферативный резерв ЭСК человека, который обеспечивает сохранение в течение всей жизни не менее 1–2 м² кожи, должен быть огромным [3, 4].

Таким образом, пополнение дифференцированного компартамента кератиноцитов зависит от пролиферации СК базального слоя, на которую оказывают влияние толщина эпителиального пласта, факторы роста/

цитокины (фактор роста кератиноцитов KGF, эпидермальный фактор роста EGF, трансформирующий фактор роста bFGF и др.), продуцируемые как самими кератиноцитами, так и фибробластами папиллярного слоя дермы [9, 10].

Следует отметить, что набор этих факторов роста, привнесенных извне, например, посредством применения PRP-препаратов, также будет оказывать стимулирующий эффект на ЭСК, способствуя эпидермальному морфогенезу и тем самым обновлению эпидермиса [11]. Стимулирующее действие на стволовые/прогениторные клетки базального слоя оказывают также ретинол и пилинги [12, 13, 14].

С возрастом эпидермис становится более уязвимым и восприимчивым к повреждениям [7], при этом его заживление идет гораздо медленнее. Такое уменьшение скорости заживления ран по мере старения, вероятно, объясняется либо снижением мобилизации СК, либо сокращением числа СК, способных отвечать на сигналы к пролиферации [2].

Стволовые клетки дермы

В дермальном слое кожи основными стволовыми клетками являются мезенхимальные стволовые (стромальные) клетки (МСК), располагающиеся в

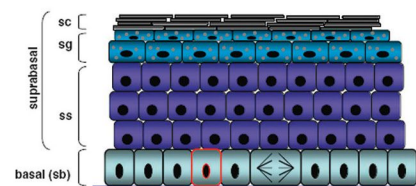


Рис. 1. Схематичное изображение интерфолликулярного эпидермиса человека. Пролиферация стволовых клеток (отмечено красным) и транзиторных клеток (черные) осуществляется в базальном слое. После отделения от базальной мембраны кератиноциты дифференцируются в клетки рогового слоя.

Примечание:

sb — stratum basale, базальный слой;
sc — stratum corneum, роговой слой;
sg — stratum granulosum, гранулярный слой;
ss — stratum spinosum, шиповатый слой [2].

специальных нишах как в самой дерме, так и в области волосяных фолликулов и периваскулярно [8]. МСК — главные участники и координаторы процессов ремоделирования дермы и поддержания/обновления популяции ее основных клеток — фибробластов [1, 2, 8].

Анализ кондиционированной среды, полученной в процессе культивирования МСК, выявил, что эти клетки секретируют множество факторов роста/цитокинов, в том числе проангиогенные (разные типы VEGF) и стимулирующие эпителиальный морфогенез (EGF и FGF7) [8], физиологический уровень

Словарик

Гетерогенная клеточная популяция — неоднородная популяция, включающая клетки всего дифферона (от недифференцированных (стволовых) до конечно дифференцированных), которые различаются между собой по морфологии, молекулярно-генетическим характеристикам и потенцию к пролиферации и дифференцировке.

Коммитированные клетки — клетки-предшественники, запрограммированные на определенное направление дифференцировки.

Мобилизация СК — рекрутирование, привлечение, прикрепление к определенному субстрату; термин применяется, как правило, в тканевой инженерии.

Стромальные клетки — (от греч. *stroma* — подстилка), т.е. поддерживающие, или опорные — мезенхимальные клетки (клетки соединительной ткани).

Транзиторные амплифицирующиеся клетки (ТАК) — прогениторные клетки (клетки-предшественники), в данной статье — клетки-предшественники кератиноцитов. Другими производными ТАК могут быть клетки придаточных структур кожи, представляющие собой такие же кратковременно делящиеся, коммитированные клетки-предшественники определенной линии придаточных структур [3].

которых, как показано в исследованиях, является ключевым для обеспечения регенеративных процессов в тканях, например при заживлении ран [9]. Международным обществом клеточной терапии (ISCT, International Society for Cellular Therapy) утверждены следующие характеристики МСК: способность к адгезии к культуральному пластику; дифференцировка *in vitro* в остео-, хондро- и адипогенном направлениях; экспрессия маркеров CD105, CD73, CD90, характерных для стромальных клеток; отсутствие экспрессии маркеров CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, CD19, HLA-DR, характерных для гемопоэтических и эндотелиальных клеток, что крайне важно для успешного внедрения результатов биомедицинских разработок, основанных на использовании МСК, в практику регенеративной медицины [15]. (Подробнее о свойствах МСК мы рассказывали в предыдущей статье. См.: *Ki* № 3, 2018, с. 76–82).

Отмечено, что при поверхностных ожогах, оставляющих неповрежденные фолликулы, но разрушающих межфолликулярный эпидермис, не требуется пересадки кожи. Напротив, после глубоких ожогов, повреждающих волосные фолликулы, это необходимо, так как самовозобновление эпителия не происходит, за исключением его роста у краев раны [3].

В дерме МСК (СКд) являются родоначальниками фибробластического дифферона — ряда клеток одной гистогенетической детерминации: от наименее дифференцированных до терминально дифференцированных. Еще в 1927 г. выдающийся гистолог и эмбриолог А.А. Максимов обратил внимание на то, что в соединительной ткани, наряду с дифференцированными формами фибробластов, присутствуют

их предшественники [18]. Пятьдесят лет спустя, в 1978 г., проф. А.Б. Шехтер выделил 6 типов фибробластов, два из которых представлены незрелыми формами (это малодифференцированные и юные фибробласты) и четыре типа — зрелыми фибробластами (коллагенобласты, миофибробласты, фиброкласты, фиброциты) [19]. Таким образом, фибробласты дермы, как показано *in vivo* и *in vitro*, не являются однородной популяцией, а представляют собой гетерогенный пул клеток, которые различаются по морфологии, молекулярно-генетическим характеристикам и потенцию к пролиферации и дифференцировке.

Структура фибробластического дифферона: существующие классификации и описания

В настоящее время единой общепринятой модели фибробластического дифферона нет, поскольку отсутствуют надежные маркеры коммитированных и некоммутированных предшествен-

ников фибробластов. Поэтому иерархию клеток в диффероне описывают по их функциональным характеристикам и степени зрелости, исходя из последних научных данных (рис. 2) [19, 20]:

- мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки соединительной ткани кожи, по потенцию сходные с МСК костного мозга;
- префибробласты — коммитированные клетки-предшествен-

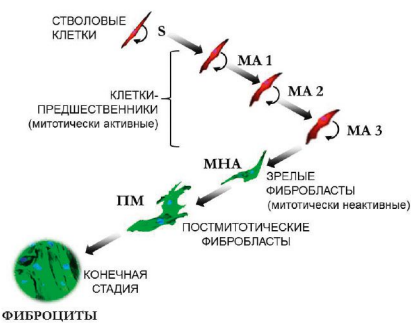


Рис. 2. Упрощенная схема фибробластического дифферона.

ники; обладают высокой пролиферативной активностью;

- дифференцирующиеся фибробласты («юные фибробласты») — промежуточный тип клеток между префибробластами и дифференцированными фибробластами; находятся на разных стадиях дифференцировки, характеризуются низким уровнем синтеза и секреции белков; митотически активны;
- дифференцированные (зрелые) фибробласты — центральное звено фибробластического дифферона; митотически не активны, но имеют высокую биосинтетическую активность: отвечают за синтез, организацию и обновление компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ) дермы;
- фиброциты — конечный тип клеток фибробластического дифферона, дефинитивные формы фибробластов; синтетически неактивны, необходимы для поддержания клеточного гомеостаза дермы.

Специализированные формы зрелых фибробластов:

- миофибробласты — обладают выраженным сократительным аппаратом (комплекс альфа-гладкомышечного актина и миозина), способны к продукции коллагена, особенно III типа; участвуют в заживлении ран;

- фиброкласты — характеризуются высокой фагоцитарной и гидролитической активностью, участвуют в расщеплении и утилизации межклеточного вещества в зоне повреждения и инволюции соединительной ткани.

Следует отметить, что клональный анализ клеточных культур дермальных фибробластов (ДФ) *in vitro* позволил выделить три типа клеточных колоний, различающихся по размерам, и показать морфологическую гетерогенность составляющих их клеток [21, 22]:

I тип — колонии, состоящие из мелких, веретеновидных клеток, хорошо взаимно ориентированных и обладающих высокой митотической активностью.

II тип — колонии, состоящие из больших, парусовидных, сильно распластанных клеток, не обладающих взаимной ориентацией; для них характерна невысокая митотическая активность.

III тип — смешанные колонии, состоящие как из мелких веретеновидных, так и из больших парусовидных клеток.

Эта классификация ДФ — по морфологическим признакам — по всей видимости, отражает неодинаковую степень их зрелости в гистогенетическом диффероне: мелкие, веретеновидные клетки менее зрелые, большие парусовидные — более зрелые.

В другом описании фибробластического дифферона дермы, основанном на более детальных сведениях о его пролиферативном потенциале, исследователи выделили две большие составляющие [23–25]: митотически активные фибробласты (МФ) и постмитотические фибробласты (ПМФ). Был проведен ряд исследований цитоморфологии МФ, их потенциала к

делению и способности синтезировать специфические цитокины и факторы роста (TGF- β , KGF). Исследования показали три последовательных этапа развития МФ: МФ I, МФ II и МФ III [24]. При этом клеточный пул МФ I обладает самым высоким пролиферативным потенциалом и проходит около 25–30 клеточных делений перед дифференцировкой в клеточную популяцию МФ II. МФ II, в свою очередь, до перехода в МФ III совершают около 15–20 делений, а МФ III перед дифференцировкой в ПМФ — всего около 5–8 делений. Таким образом, популяции МФ дермы представляют собой цитогенетический ряд — от префибробласта до юного фибробласта.

Другой клеточный пул, или клеточная система, «дифференцированный фибробласт — фиброцит» характеризуется отсутствием пролиферативной активности. Однако эта система продуцирует, в пересчете на одну клетку, в 5–8 раз больше общего коллагена, чем клеточные популяции МФ. Именно она обеспечивает корректное соотношение коллагена I, III и V типов, необходимое для поддержания морфофункциональной организации дермы [24].

Интересно, что в коже человека соотношение клеточных популяций МФ и ПМФ постоянно и составляет 2:1, независимо от возраста человека. В условиях *in vitro* клеточные популяции МФ и ПМФ разделяют по такому критерию, как специфическая экспрессия гена фермента β -галактозидазы, характерная для ПМФ и не наблюдающаяся у МФ [25]. Исходя из факта продуцирования этого фермента или его отсутствия, определяют митотически и синтетически активные фибробласты (МФ и ПМФ соответственно) и идентифицируют процессы клеточно-

го старения в культурах фибробластов [26].

В целом фибробластический дифферон можно разделить на 3 основных компартмента:

- 1-й компартмент — включает стволовые и прогениторные клетки (клетки-предшественники фибробластов); характеризуется высоким пролиферативным потенциалом; задача клеток этого компартмента — деление и поддержание численности популяции фибробластов кожи. В зависимости от пролиферативной активности клеток он может быть представлен 3 митотически активными (МА) пулами: МА I, МА II, МА III, где клетки МА I отличаются самым высоким пролиферативным потенциалом, МА II — меньшим, по сравнению с МА I, МА III — невысоким пролиферативным потенциалом [24].
- 2-й компартмент — состоит из зрелых (дифференцированных) фибробластов. Эти клетки кожи *in vivo* уже не делятся, но *in vitro* еще демонстрируют совсем незначительную пролиферативную активность. В этот же компартмент входят и постмитотические фибробласты, полностью утратившие способность к делению. 2-й компартмент представляет собой ключевое звено фибробластического дифферона, поскольку составляющие его клетки обладают высоким биосинтетическим потенциалом: именно эти клетки отвечают за продукцию компонентов ВКМ дермы — коллагена, эластина, гиалуроновой кислоты и др., его организацию и обновление.
- 3-й компартмент — дифференцированные фиброциты. Эти клетки уже не делятся и не обладают практически никакой биосинтетической активно-

стью. Их роль — поддержание клеточного гомеостаза дермы. Популяция ДФ представляет собой основную точку приложения терапевтического воздействия при применении практически всех современных методов косметологии. Поэтому врачу-косметологу знание структуры фибробластического дифферона, учет пролиферативной и синтетической активности тех или иных его составляющих крайне необходимы для осуществления адекватной стимуляции определенной функциональной ак-

тивности ДФ. В ответ на это воздействие (в зависимости от его силы и интенсивности) клетки-предшественники фибробластов (включая СК) будут реагировать усилением пролиферации, что приведет к увеличению популяции фибробластов, а зрелые фибробласты — активизацией синтеза компонентов ВКМ.

Таким образом, главными клетками кожи являются стволовые клетки (в эпидермисе — ЭСК, в дерме — МСК), благодаря которым поддерживается гомеостаз

кожных тканей и обеспечивает их обновление. Безусловно, понимание структуры клеточных дифферонов эпидермиса и дермы и грамотное использование косметологических методов позволит врачу-косметологу поддерживать кожу пациентов в хорошем состоянии в течение длительного времени. **КД**

О влиянии различных косметологических методов на функционирование стволовых клеток кожи и фибробластов дермы мы расскажем в следующем номере Ки.

ЛИТЕРАТУРА

- Christine M.P., Reichelt J., Bauer J.W., et al. Current and future perspectives of stem cell therapy in dermatology // *AnnDermatol.* 2017; 29 (6): 667–87.
- Zouboulis C., Adjaye J., Akamatsu H., et al. Human skin stem cells and the ageing process // *Experimental gerontology* 2008. 43:986–97.
- Петренко А.Ю., Хунов Ю.А., Иванов Э.Н. Стволовые клетки. Свойства и перспективы клинического применения. Монография. Луганск: Пресс-экспресс, 2011.
- Alonso L., Fuchs E. Stem cells of the skin epithelium // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100 (1): 11830–5.
- Oshima H., Rochat A., Kedzia C., et al. Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells // *Cell* 2001; 104: 233–45.
- Jensen K.B., Watt F.M. Single-cell expression profiling of human epidermal stem and transit-amplifying cells: Lrig1 is a regulator of stem cell quiescence // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103: 11958–63.
- Fernandes K.J., McKenzie I.A., Mill P., et al. A dermal niche for multipotent adult skin-derived precursor cells // *Nat Cell Biol.* 2004; 6:1082–93.
- Зорина А.И., Бозо И.Я., Зорин В.Л. и др. Фибробласты дермы: особенности цитогенеза, цитофизиологии и возможности их клинического применения // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2011. 6 (2): 15–26.
- Chen L., Tredget E., Wu P., et al. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing // *PLoS ONE* 2008; 3(4): 1886.
- Myers S., Leigh L., Navsaria H. Epidermal repair results from activation of follicular and epidermal progenitor keratinocytes mediated by a growth factor cascade // *Wound Repair Regen.* 2007; 15(5): 693–701.
- Зорина А.И., Зорин В.Л., Черкасов В.Р. PRP в эстетической медицине // *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология.* 2013. № 6. С. 10–22.
- Pauwels C. The alpha-hydroxy acids in dermatological practice // *BEDC* 1994; 2 (10): 437–53.
- Tang S-C., Yang J-H. Dual effects of alpha-hydroxy acids on the skin // *Molecules* 2018; 23: 863; doi:10.3390/molecules23040863;
- Vauman L., Saghari S. Основные сведения об эпидермисе. Химический пилинг. В кн.: *Косметическая дерматология. Принципы и практика/под ред. Н.Н. Потекаева. М.: МЕДпресс-информ, 2012. 688 с.*
- Кузьмина Т.С. Химические пилинги в эстетической дерматологии // *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология.* 2008. № 5. С.24–28.
- Maxson S., Lopez E., Yoo D. Concise review: role of mesenchymal stem cells in wound repair // *Stem Cells Transl. Med.* 2012; 1: 142–9.
- 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): 315–7.
- Бозо И.Я., Деев Р.В., Пинаев Г.П. «Фибробласт» — специализированная клетка или функциональное состояние клеток мезенхимного происхождения? // *Цитология.* 2010.Т. 52(2). С. 99–109.
- Шехтер А.Б., Берченко Г.Н., Фибробласты и развитие соединительной ткани: ультраструктурные аспекты биосинтеза, фибриллогенеза и катаболизма коллагена // *Архив патологии.* 1978. № 8. С. 70.
- Омельяненко Н.П., Слуцкий Л.И. Соединительная ткань (Гистофизиология и биохимия). Т. 1 / под ред. С.П. Миронова. М.: Известия, 2009. С. 69–70.
- Терехов С.М., Гацадзе Х.А., Гринберг К.Н. Клональная гетерогенность фибробластов разных тканей эмбриона человека in vitro // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 1984. № 5. С. 590–601.
- Лебединская О.В., Горская Ю.Ф., Куралесова А.И. Морфологическая характеристика колоний стромальных клеток-предшественников в культурах гетеротопных трансплантатов костного мозга и селезенки мышей разного возраста // *Морфология: научно-теоретический медицинский журнал.* 2004. Т.126(6). С. 46–49.
- Байрейтер К., Франц П., Родеман Х. Фибробласты при нормальной и патологической терминальной дифференцировке, старении, апоптозе и трансформации // *Онтогенез.*1995. Т. 26 (1). С. 22–37.
- Nolte S.V., Xu W., Rennekampff H-O., et al. Diversity of fibroblasts // *A review on implications for skin tissue engineering cells tissues organs.* 2008;187:165–76.
- Nakenjos L., Vamberg H., Rodemann H., et al. TGF- β 1-mediated alterations of rat lung fibroblast differentiation resulting in the radiation-induced fibrotic response // *Int. J. Radiat. Biol.* 2000; 76:503–9.
- Dimiri G., Lee X., Basile G., et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo // *PNAS USA*1995; 92: 9363–7.