

Зорин В.Л.^{1,2}, Зорина А.И.², Пулин А.А.¹, Копнин П.Б.³, Еремин И.И.¹

Перспективы использования клеток, обладающих миогенным потенциалом, в лечении заболеваний скелетных мышц: обзор исследований. Ч. 1. Сателлитные клетки

¹ — ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 123182, Москва, ул. Живописная, 46

² — ОАО Институт стволовых клеток человека, 119333, Москва, ул. Губкина, 3, стр. 2

³ — НИИ Канцерогенеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478, Москва, Каширское ш., 24

Нарушения функций скелетно-мышечного аппарата могут развиваться вследствие как травм, так и различного рода врожденных / приобретенных заболеваний, среди которых особое место занимают мышечные дистрофии. Одним из наиболее перспективных подходов к решению проблемы эффективного восстановления структуры и функций скелетных мышц считают технологии с использованием клеток, обладающих миогенным потенциалом. В I части статьи рассмотрены характерные свойства, функции и фенотипические особенности сателлитных клеток (СК) как ключевого фактора регенерации скелетной мышечной ткани. Дан анализ представленных в литературе результатов научных исследований (доклинических и клинических) терапевтических возможностей технологий с применением СК. Во второй части обзора будут представлены данные литературы по возможностям терапевтического использования стволовых клеток мышечного и немышечного происхождения для лечения заболеваний скелетных мышц.

Ключевые слова: *стволовые клетки, клетки с миогенным потенциалом, сателлитные клетки, миосателлитозиты, скелетная мышца, мышечные дистрофии, регенерация, клеточная терапия*

Zorin V.L.^{1,2}, Zorina A.I.², Pulin A.A.¹, Kopnin P.B.³, Eremin I.I.¹

Prospects for the use of cells possessing myogenic potential in the treatment of skeletal muscle diseases: a review of research. Part 1 — satellite cells

¹ — A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia, 46 Zhivopisnaya Str., Moscow, 123182, Russia

² — Human Stem Cells Institute, 3/2 Gubkina Str., Moscow, 119333, Russia

³ — N.N. Blokhin Cancer Research Center of RAMS, 24, Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia

Musculoskeletal functions disorders may develop as a consequence of injuries and various types of congenital / acquired diseases, among which a special place belongs to muscular dystrophy. The technology with use of cells possessing myogenic potential is considered as one of the most promising approaches to solve the problem of effective restoration of skeletal muscles structure and function. In part I of the article the characteristic features, functions and phenotypic characteristics of satellite cells (SC) are reviewed as key factors of skeletal muscle tissue regeneration. Presented analysis of research results (preclinical and clinical) concerning therapeutic possibilities of technology using SC. In the second part of review will be presented data of the therapeutic use of stem cells of muscle and non-muscle origin for the treatment of skeletal muscles diseases.

Key words: *stem cells, cells with myogenic potential, satellite cells, myosatellite cell, skeletal muscle, muscular dystrophy, regeneration, cell therapy*

Скелетная мышечная ткань играет важнейшую роль в поддержании гомеостаза жизнедеятельности организма [1]. Поддержание скелетной мускулатуры в нормальном функциональном состоянии — обязательное условие обеспечения полноценного качества жизни человека.

К серьезным дисфункциям скелетной мускулатуры относятся мышечные дистрофии (дефект самой мышцы), нейромышечные заболевания (нарушения нейронального контроля мышцы), саркопения (атрофическое дегенеративное изменение скелетной мускулатуры, ассоциированное с возрастом), кахексия (потеря мышечной ткани, индуцированная онкологическим заболеванием) и другие врожденные и приобретенные миопатии, причем ряд из этих патологий, в частности мышечные дистрофии, неизлечимы и завершаются летальным исходом [1, 2].

Для корреспонденции: *Еремин Илья Игоревич, к.м.н., руководитель Центра биомедицинских технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, e-mail: cd105@mail.ru*

Среди миопатий наиболее хорошо изучены мышечные дистрофии, которые представляют собой группу генетических заболеваний, характеризующихся прогрессирующей мышечной слабостью и заканчивающихся атрофией мышц [3—6]. Сегодня известно примерно 40 типов мышечных дистрофий, различающихся по степени тяжести. В дистрофической мышце происходит уменьшение в размерах мышечных волокон, их повреждение и гибель, сопровождающиеся некрозом, и замещение мышечной ткани соединительной и жировой [7]. Причина, лежащая в основе большинства мышечных дистрофий, — мутации в генах, кодирующих компоненты дистрофин-гликопротеинового комплекса, который связывает миофибрильный цитоскелет клетки с ее межклеточным матриксом (МКМ) [8—10] и отвечает за целостность и функции мышечной клетки [11]. К наиболее распространенным и тяжелым из них относится X-сцепленная рецессивная мышечная дистрофия Дюшена — врожденное заболевание, частота встречаемости которого составляет 1:3500 новорожденных мальчиков [12, 13].

В настоящее время поиски путей восстановления нормальной структуры и функций скелетных мышц идут по разным направлениям: с помощью фармакологических препаратов (противовоспалительных и воздействующих на вторичных посредников передачи сигнала) [14, 15], клеточной терапии [14], генной инженерии — методом «перепрыгивания экзонов» (exon-skipping capacity) [14, 16, 17] или редактирования генома посредством лентивирусов и системы CRISPR/Cas9 [18].

Как одно из наиболее перспективных направлений рассматривается применение клеточных технологий, базирующихся на трансплантации внутримышечно или в системный кровоток клеток с миогенным потенциалом, то есть способных дифференцироваться в миотубы (мышечные трубки) [14, 19]. Предполагается, что интеграция клеток с нормальным генотипом с патологически измененными резидентными стволовыми клетками приведет к реализации метаболизма поврежденных мышечных волокон и восстановлению в дальнейшем физиологического гомеостаза скелетной мышцы. Немаловажную роль в этих процессах играет также противовоспалительный и иммуномодулирующий эффекты клеточной терапии, поскольку воспаление является значимым звеном патогенеза патологии скелетных мышц [20, 21].

Цель обзора — анализ научно доказанных характеристик свойств, функций и фенотипических особенностей клеток с миогенным потенциалом, а также возможностей их применения для восстановления структуры и функций скелетных мышц.

Структура и регенераторный потенциал скелетных мышц

Скелетная мышечная ткань представляет собой сложную систему, состоящую из многоядерных клеток — мышечных волокон, или симпластов, являющихся ее структурно-функциональными единицами. Симпласты развиваются из многоядерных миотуб (мышечных трубок).

Каждое мышечное волокно окружено сарколеммой, тонкой оболочкой, состоящей из внутренней части — плазмолеммы и наружной — базальной мембраны. Мышечные волокна сгруппированы в пучки, формирующие скелетную мышцу [22].

Скелетные мышцы отличаются высоким регенераторным потенциалом, который, как и у большинства постнатальных тканей, поддерживается пулом тканеспецифичных, так называемых взрослых стволовых клеток [19, 20, 23, 24]. Основной клеточной популяцией, ответственной за регенерацию и рост скелетных мышц, являются сателлитные клетки (СК). Их роль хорошо видна на примере X-сцепленной рецессивной мышечной дистрофии Дюшена (DMD). Развитие этого заболевания обусловлено отсутствием функционального белка дистрофина вследствие мутации в гене *DMD* [19]. Утрата дистрофина ослабляет структурную целостность сарколеммы, что приводит к прогрессирующему повреждению мышц [25]. Последнее, в свою очередь, индуцирует хронические циклы дегенерации и регенерации мышечных волокон, что побуждает СК претерпевать непрерывные циклы активации, пролиферации и дифференцировки [1, 23, 24]. Так, в экспериментах показано, что СК mdx-мышей (дистрофин-дефицитных мышей, используемых в качестве модели DMD у человека) постепенно утрачивают свои регенеративные свойства [26]. Вероятно, истощение пула СК делает мышечную ткань неспособной к восстановлению после повреждений, вследствие чего постепенно происходит ее замена соединительной и жировой тканью [20].

Таким образом, именно популяция стволовых СК обеспечивает процессы роста, дифференцировки и восстановления скелетных мышц в норме и при патологии в постнатальный период [20, 27—32].

Однако в исследованиях последних лет идентифицированы также и популяции других стволовых клеток, способных участвовать в миогенезе и восстановлении физиологического гомеостаза скелетных мышц [1, 14, 20]. Их можно разделить на 2 группы:

- 1) клетки мышечного происхождения, содержащиеся в самих скелетных мышцах: мультипотентные клетки-предшественники (MDSCs), мышечные стволовые клетки побочной популяции (SMSP) и мультипотентные клетки-предшественники CD133+;

2) клетки немышечного происхождения: мультипотентные мезенхимные стволовые клетки, выделенные из костного мозга (ММСК_{км}); мультипотентные клетки-предшественники CD133+, выделенные из мобилизованной крови; мультипотентные прогениторные клетки; мезоангиобласты; индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSCs) (рис. 1).

Сателлитные клетки — идентификация и роль в миогенезе

Сателлитные клетки — небольшие стволовые/прогениторные клетки, локализованные в мышечном волокне [2, 33, 34]. Показано, что СК мигрируют из дорсальных компартментов сомита в период эмбриогенеза и функционируют на протяжении всего онтогенеза [27, 35]. В постнатальный период процессы обновления и регенерации скелетной мышечной ткани происходят за счет дифференцировки СК [28—29]. Эти клетки обладают также способностью к самообновлению, благодаря чему поддерживается пул резидентных недифференцированных СК мышечной ткани [30, 31].

Взрослые СК (согласно современной гистологической номенклатуре — миосателлитоциты [36]) впервые были описаны А. Мауго в 1961 г. как одноядерные клетки, локализованные между плазмолеммой мышечного волокна и базальной мембраной [33], что играет определяющую роль в поддержании их пролиферативного покоя [36]. Идентифицируют СК не только по их локализации, но и по экспрессии определенных белков — специфических маркеров (таблица). Некоторые из них являются внутриклеточными, как например: транскрипционный фактор парного гомеобокса PAX7 и белки ядерной мембраны ламин А/С (LMNA) и эмерин (EMD). Другие маркеры: синдеканы 3 и 4 (SDC3 и SDC4), мышечный М-кадгерин (M-cadherin), рецептор кальцитонина (CALCR), хемокиновый CXС-рецептор 4-го типа (CXCR4), caveolin 1 (CAV1), α 7- и β 1-интегрины, NCAM1 (neural cell adhesion molecule 1 — нейрональная молекула клеточной адгезии 1), VCAM1 (vascular cell adhesion molecule 1 — васкулярная молекула клеточной адгезии 1) и CD34 (маркер гемопоэтических и эндотелиальных стволовых клеток) — локализуются на поверхности клеточной мембраны [37, 38].

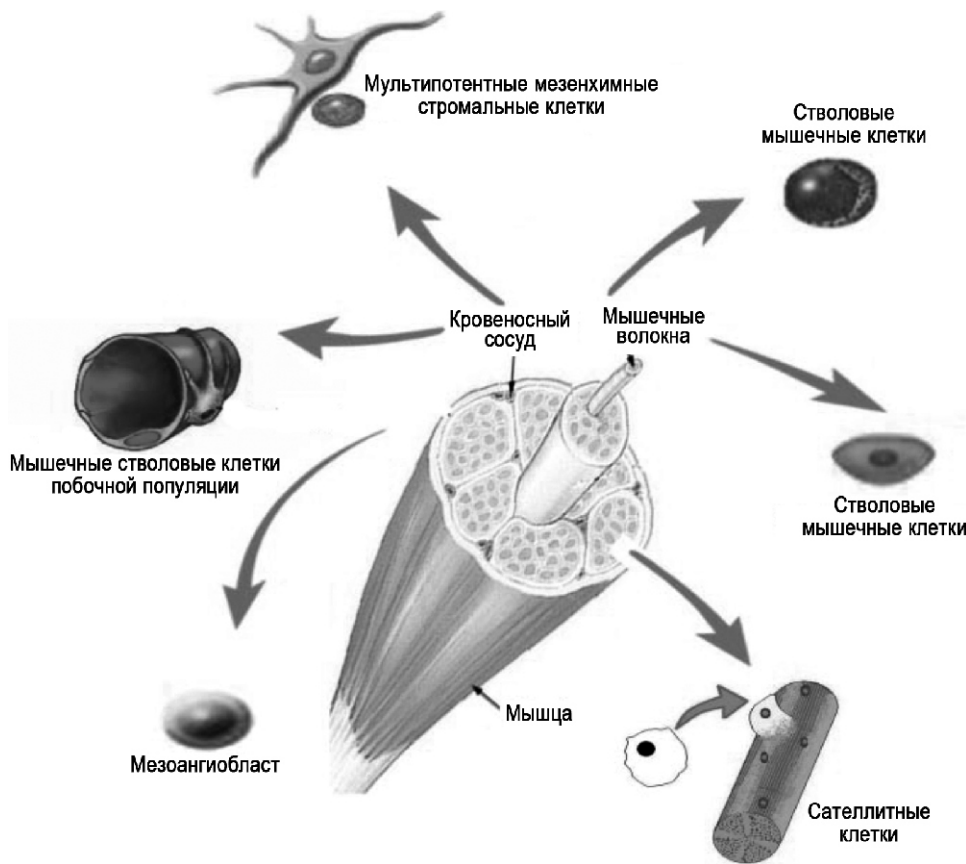


Рис. 1. Источники получения стволовых клеток, обладающих миогенным потенциалом (A.Farini с соавторами, 2009 [14], рисунок модифицирован авторами настоящей статьи).

Маркеры сателлитных клеток (S. Kuang and M. Rudnicki, 2007) [50]

Маркер	Экспрессия Вид	СК в покое	Активированные СК	Дифференцированные миобласты	Функции
Клеточная поверхность					
c-met	м, ч	+	+	+	HGF-рецептор
Caveolin-1	м	+			Остановка клеточного цикла
CD34	м	+	+	+	Неизвестно (включается во время активации)
CTR	м	+			Регуляция состояния покоя
CXCR4/SDF-1b	м, ч	+	+	+	Миграция
ErbB receptor	м		+	+	Антиапоптоз
Igsf4a	м	+	+		Неизвестно
Integrin a7	м, ч	+	+	+	Передача сигналов в МКМ, слияние
Integrin b1	м, ч	+	+	+	Передача сигналов в МКМ, слияние
M-cadherin	м, ч	+	+	+	Анкеровка
Necdin	м		+	+	Активирует дифференцировку
Megf10	м	+/	+		Регулятор состояния покоя
NCAM	м, ч	+	+	+	Адгезия
Neuritin-1	м	+	+		Неизвестно
p75NTR/BDNFC	м	+	+		Ингибция дифференцировки
Pb99	м	+	+		Неизвестно
SM/C-2.6	м	+	+		Неизвестно
Sphingomyelin	м	+			Активация клеточного цикла
Syndecan 3/4	м	+	+	+	Передача сигналов в МКМ
TcRb	м	+	+		Неизвестно
VCAM-1/VLA-4d	м	+	+	+	Слияние миобластов
Транскрипционные факторы					
Foxk1	м	+	+	+	Пролиферация или клеточный цикл
HoxC10	м	+	+	+	Неизвестно
Lbx1	м		+	+	Принудительный перевод активированных СК в состояние покоя
Myf5	м, ч	+	+	+	Миогенное программирование и транзиторная амплификация
MyoD	м, ч		+	+	Активация и миогенная дифференцировка
Msx1	м	+			Ингибция дифференцировки
Pax3	м	+/	+/		Множество функций
Pax7	м, ч	+	+		Множество функций
Sox8/9 Другие	м	+	+		Ингибция дифференцировки
Desmin	м, ч	+/	+	+	Цитоскелет
Myostatin/ACVR2	м, ч	+	+	+	Ингибция активации СК и мышечного роста
Nestin	м, ч	+			Цитоскелет, ядерная организация?

Примечание. МКМ — межклеточный матрикс; м — мышь, ч — человек.

В постнатальном периоде все покоящиеся СК экспрессируют такие транскрипционные факторы и маркеры, как Pax7, CD34, c-met, Foxk1, M-cadherin [39, 40]. Некоторые субпопуляции СК ряда скелетных мышц (в частности, диафрагмы и мышц стенок тела) экспрессируют также и транскрипционный фактор Pax3 — паралог Pax7 [41, 42]. Известно, что Pax3 играет ключевую роль в период эмбрионального миогенеза и в большинстве СК его экспрессия подавляется перед рождением [43]. А в постнатальном периоде ключевым для СК становится транскрипционный фактор Pax7 [44]. Так, показано, что у линии мышей, у которых отсутствует ген Pax7 (Pax7-null mice), нет и СК [39, 44]. Проведенный сравнительный анализ участков связывания транскрипционных факторов Pax3 и Pax7 по всему геному подтвердил, что Pax7 играет доминирующую роль в регуляции транскрипции генома взрослых СК скелетных мышц [43]. Таким образом, транскрипционные факторы семейства Pax — Pax3 и Pax7 — играют основные и не дублирующие друг друга роли в миогенезе скелетных мышц [45].

В физиологических условиях стволовые СК находятся в состоянии покоя, пассивно располагаясь в своей анатомической нише (в специфическом микроокружении, состоящем из сети фибриллярных белков, ростовых факторов / цито- и хемокинов, а также молекул, продуцируемых соседними клетками [20, 44]). Состояние покоя СК обеспечивается сочетанием двух факторов — подавлением транскрипции ключевых генов и высокой экспрессией белков-ингибиторов клеточного цикла [40]. Основную роль в подавлении клеточного цикла играет сигнальный путь Notch, активация которого лигандами Delta и/или Jagged запускает экспрессию генов-мишеней Notch — Hes1, Hes5, Hey и Heyl [47, 48]. Все вместе они подавляют экспрессию белка детерминации миобластов MyoD (myoblast determination protein), препят-

ствуя осуществлению клеточного цикла. (Нокаут генов Hey1 and Heyl, как показали исследования S. Fukada с соавторами (2011), ведет к преждевременной активации MyoD в покоящихся СК [49]).

В ответ на физическую нагрузку и при повреждении мышечной ткани происходит активация покоящихся СК, далее их пролиферация и дифференцировка в миогенном направлении, образование миобластов (миогенных прогениторных клеток) и миоцитов, слияние последних в миотубы с последующим созреванием в мышечные волокна — таким образом, осуществляется весь процесс миогенеза [1, 50] (рис. 2). Транскрипционные факторы Pax3 и Pax7 индуцируют экспрессию генов, активирующих пролиферацию СК и их дифференцировку в миобласты, и подавляют экспрессию генов, которые индуцируют терминальную миогенную дифференцировку [51]. При этом факторы семейства Pax регулируют транскрипцию миогенных регуляторных факторов (MRFs), которые отвечают как за программирование СК на дифференцировку в миобласты, так и за регуляцию самой миогенной дифференцировки.

В период активации СК (их миогенного программирования и дифференцировки) наблюдается нарастающая экспрессия миогенных регуляторных факторов MYF5, MYOD1 и MYOG (миогенина), индуцируемая и регулируемая факторами Pax3 и Pax7 [52—55]. Поскольку СК с фенотипом MYF5+ и миобласты с фенотипом MYOD1+ обладают низким регенеративным потенциалом и не способны к самоподдержанию, миогенные факторы MYF5 и MYOD1 рассматриваются как факторы детерминации СК. По мере уменьшения экспрессии Pax7 и увеличения экспрессии MyoD и миогенина в фазу дифференцировки [56]. Перед терминальной дифференцировкой, которую инициирует миогенин, после образования достаточного количества миобластов экспрессия фактора Pax7 полностью подавляется.

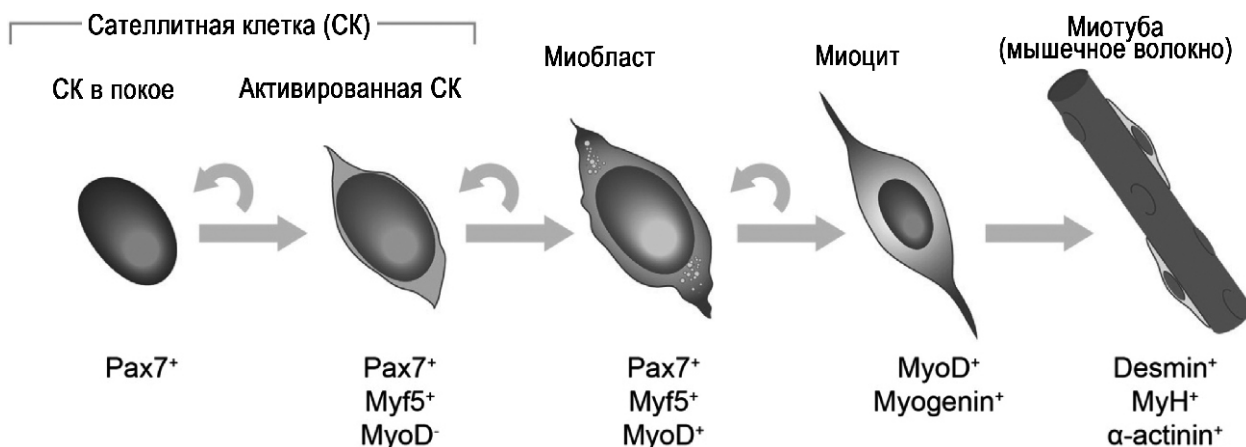


Рис. 2. Последовательность этапов постнатального миогенеза — от СК к мышечным волокнам (К. McCullagh, R. Perlingeiro, 2014 [1]).

Характеристики сателлитных клеток

Самоподдержание (самообновление). СК — миогенные стволовые клетки, обладающие одной из важнейших характеристик «стволовости» — способностью к самоподдержанию. Это их свойство нашло подтверждение в целом ряде исследований. Так, трансплантация всего лишь семи СК в мышцы мышей mdx, получивших значительные дозы радиационного облучения и неспособных к мышечной регенерации, приводит к образованию сотен новых мышечных волокон и ассоциированных с ними СК [32]. При этом новообразованные СК поддерживают мышечную регенерацию на протяжении последующих раундов нанесения повреждений и легко выделяются повторно [30]. Проведенная трансплантация одиночных миофибрилл в мышцу мышей также подтверждает, что СК — это миогенные стволовые клетки, так как они могут образовывать как новые миофибриллы, так и новые СК [30, 58]. Эксперименты по долговременному «отслеживанию» метки в трансгенных H2B-GFP-мышцах выявили, что в физиологических условиях часть СК с фенотипом PAX7+ может оставаться в состоянии покоя в течение практически всей жизни животного, сохраняя при этом способность к самоподдержанию [59]. Исследование А. Сассо с соавторами (2008), в котором использовали клональный анализ культур СК и биоломинисцентную визуализацию СК после их трансплантации в мышцы мышей mdx [57], показало, что потомки одной СК (фенотип Pax7+) обладают способностью как к самоподдержанию и интенсивной пролиферации, так и к дифференцировке с образованием мышечных волокон.

Процесс самоподдержания стволовых СК осуществляется за счет их асимметричного и симметричного делений. Асимметричное деление происходит с образованием двух дочерних клеток: одной — запрограммированной на самообновление, другой — на миогенную дифференцировку [32, 58—61]. При этом обе клетки обмениваются сигналами обратной связи для дальнейшего подтверждения их противоположных судеб, а дельта-подобный лиганд 1 (DLL1) сигнального пути Notch экспрессируется в прогениторной клетке (запрограммированной на миогенную дифференцировку), тем самым обеспечивая состояние покоя другой дочерней клетки — стволовой [61]. Как показали исследования, ингибирование Notch приводит к утрате популяции стволовых СК.

Симметричное деление стволовых СК, с образованием двух дочерних клеток, идентичных материнской, поддерживает численность СК на протяжении циклов повреждения — регенерации мышечной ткани. В этом процессе активную роль играет белок Wnt7a, секретруемый регенерирующими мышечными волокнами. Он активирует механизм плоскостной поляризации клеток,

приводящей к ее симметричному делению с образованием двух одинаковых дочерних стволовых клеток [62]. По данным С. Bentzinger с соавторами (2014), экспозиция *ex vivo* стволовых СК с белком Wnt7a перед трансплантацией способствует более высокой приживаемости этих клеток в мышцах [63].

Баланс между симметричным и асимметричным клеточным делением четко регулируется путем дополнительной обратной связи с нишей СК [62].

Мультипотентность. Наряду с миогенным потенциалом выявлена также способность СК к мультипотентной дифференцировке (еще одна характеристика «стволовости» клеток). Так, при добавлении адипогенных и остеогенных индуцирующих факторов — BMP4/BMP7 и MDI-I соответственно — в культуру СК последние дифференцируются в адипогенном и остеогенном направлении [64, 65]. А при контакте с PDGF-BB (тромбоцитарным фактором роста BB) и DLL4 (дельта-подобным лигандом 4 Notch), секретруемыми эндотелиальными клетками, СК дифференцируются в перициты — ассоциированные с эндотелием мезенхимные клетки [66]. Однако остается неизвестным, все ли СК обладают потенциалом к дифференцировке в немиогенные клеточные линии или только некоторые их субпопуляции.

Гетерогенность. Популяция СК крайне неоднородна: эти клетки различаются между собой не только по паттерну экспрессии генов (о чем свидетельствует переменная экспрессия таких маркеров, как Pax7, MYF5, CD34 [59, 67]), но и по способности к самоподдержанию, запрограммированности к миогенной дифференцировке и пролиферативному потенциалу. Так, было установлено, что субпопуляции СК значительно различаются по уровню экспрессии гена Pax7 (уникального маркера СК, играющего критическую роль в их функционировании) [40, 42, 43]. Из мышц трансгенных мышей Pax7-GFP, у которых экспрессия GFP коррелирует с экспрессией Pax7, с помощью флуоресцентно-активированного клеточного сортирования были выделены покоящиеся СК, которые разделили на субпопуляции с высоким и низким уровнем экспрессии гена Pax7. Клетки с высоким уровнем экспрессии Pax7 обладают более низкой метаболической активностью, меньшей скоростью пролиферации и большей устойчивостью к дифференцировке по сравнению с клетками с низким уровнем экспрессии этого гена [59]. Авторы также выявили, что во время деления в клетках с высоким уровнем экспрессии Pax7 хромосомы расходятся асимметрично с образованием дочерней клетки, тогда как в клетках с низкой экспрессией PAX7 наблюдается случайное (случайное) расхождение хромосом.

Известно, что покоящиеся СК характеризуются экспрессией гена Pax7 и отсутствием экспрессии MyoD. Активированные СК, напротив, отличаются

стабильной экспрессией генов *MyoD* и/или *Myf5* [32]. Однако в других работах было показано, что в миобластах и в популяции СК культивируемого мышечного волокна присутствует субпопуляция СК с фенотипом $Pax7^+/MyoD^+$, экспрессия гена *MyoD* в которых подавлена. Эта субпопуляция характеризуется устойчивостью к дифференцировке в миобласты и находится в митотически неактивном состоянии, сходным с состоянием покоя [57, 68].

Исследования *in vivo*, проведенные с использованием метода непрерывного мечения СК крысы бромдезоксифторидином (BrdU, аналогом тимидина), выявили гетерогенность популяции СК по степени пролиферативной активности. Было установлено, что подавляющее большинство этих клеток (примерно 80%) быстро вступали в клеточный цикл и способствовали образованию новых мышечных волокон, тогда как остальные — «резервная» субпопуляция (20%) — обладали гораздо меньшей скоростью пролиферации и были устойчивы к дифференцировке в миобласты [45].

Эксперименты по трансплантации свежееизолированных СК показали также, что лишь небольшая часть пересаженных клеток обладала способностью к повторному заселению ниши СК [30]. Полученные данные позволяют предположить, что «истинные» стволовые клетки, ограничиваются только определенной их субпопуляцией, а не всем клеточным пулом [45, 69]. Подтверждением этому может служить исследование V. Shinin с соавторами (2006), которые показали, что лишь ограниченное число СК в мышцах взрослых мышей сохраняют метку BrdU, то есть являются «истинными» стволовыми клетками с неэквивалентными нитями ДНК, защищенными от ошибок в репликации [60].

По всей видимости, популяцию СК можно разделить на две основные субпопуляции: запрограммированные к миогенной дифференцировке прогениторные (коммитированные) клетки и стволовые клетки. Последние, за счет асимметричного деления, способны давать начало миогенным прогениторным клеткам и постоянно поддерживать пул стволовых СК [41].

S. Kuang с соавторами (2007) изучали клеточные линии мышечной, несущие репортерные аллели генов *Myf5-Cre* и *Rosa26YFP* и выявили субпопуляцию СК, в которых отсутствовала экспрессия гена *Myf5* [61]. Такие клетки с фенотипом *Myf5*- составляли незначительную часть (примерно 10%) от общего числа СК, экспрессирующих транскрипционный фактор *Pax7*. Они обладали высоким регенеративным потенциалом и способностью к более быстрому повторному заселению ниши СК по сравнению с прогениторными клетками, имеющими фенотип *Myf5*+. Трансплантация последних в мышечную ткань приводила к их преждевременной дифференцировке и ограниченной миграции, в то время как клетки с феноти-

пом $Pax7^+/Myf5$ - активно пополняли пул СК всей мышечной ткани [45].

Возможно, именно клетки с фенотипом $Pax7^+/Myf5$ - и представляют собой популяцию «истинных» стволовых СК, так как являются представителями клеточных линий, берущих начало от популяции эмбриональных прогениторных клеток с фенотипом Pax^+/MRF -.

Перспективы клинического применения сателлитных клеток при мышечных дистрофиях

Сателлитные клетки и миобласты, полученные в процессе культивирования, — это первые клетки, использованные в доклинических и клинических исследованиях по применению клеточной терапии у пациентов с мышечными дистрофиями [1, 14, 20, 45]. Так, в доклинических исследованиях была продемонстрирована способность трансплантированных миобластов, полученных из мышц мышцей дикого типа, восстанавливать экспрессию дистрофина в мышцах мышцей mdx [70]. В то же время клинические исследования по применению у пациентов с DMD аллогенных миобластов, полученных из мышц близких родственников, не выявили функционального и клинического улучшения. Эффективность выработки дистрофина в мышечных волокнах пациентов с DMD составила менее 1%; также были отмечены ограниченная миграция миобластов из мест инъекции и плохая приживаемость клеток. Однако последний факт можно объяснить, по всей видимости, их иммунным отторжением, поскольку аналогичное клиническое исследование, в котором трансплантация аллогенных миобластов проводилась на фоне грамотно подобранной иммуносупрессии, показало, что количество волокон, продуцирующих дистрофин, уже через месяц после трансплантации составило 10% [60—74].

В процессе культивирования СК их миогенный потенциал значительно снижается по сравнению с таковым *in vivo*. Решение этой проблемы является одной из ключевых задач, принципиально важных для разработки клеточной медицинской технологии, основанной на использовании СК [20].

Есть также и проблемы клинического применения технологии с использованием СК, связанные с низкой экспансией миобластов, поскольку они имеют ограниченный срок жизни, не способны к длительному делению в условиях *in vitro*, а с возрастом эти характеристики усугубляются, и особенно у больных мышечными дистрофиями [75].

Ключевая роль СК в регенерации скелетных мышц диктует необходимость продолжения изучения возможностей их применения в регенеративной медицине. В настоящее время в Университете Квебека (Канада) идет набор волонтеров для участия в I/II фазе клинического

исследования (NCT02196467) эффектов внутримышечных инъекций культивированных аллогенных миообластов на фоне иммунодепрессантов. В ходе испытаний миообласты, полученные из скелетных мышц здоровых доноров, вводят пациентам с мышечной дистрофией Дюшена [76]. Ранее, в Ia фазу этого исследования, было установлено, что трансплантация аллогенных миообластов способствует восстановлению продукции дистрофина в мышечных волокнах [77].

Сегодня разрабатываются и другие стратегии, которые позволили бы использовать СК с максимальной эффективностью. Основная задача, стоящая перед исследователями, заключается в том, чтобы добиться высокой экспансии СК/миообластов в культуре без потери ими миогенного и регенеративного потенциалов. Как один из перспективных вариантов рассматривается применение генетически модифицированных (например, посредством лентивирусной сверхэкспрессии гена *Pax7*) аутологичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSCs), выделенных из скелетных мышц пациентов с DMD и индуцированных в направлении миогенной дифференцировки. Доклинические исследования трансплантации полученных таким способом СК/миообластов человека в мышцы мышей *mdx* продемонстрировали приживаемость трансплантированных клеток человека и образование содержащих дистрофин мышечных волокон [78]. Однако внедрение описанного подхода в медицинскую практику требует проведения исследований, достоверно доказывающих безопасность применения перепрограммированных соматических клеток.

Еще одна инновационная стратегия использования СК в клеточной терапии базируется на биоинженерных разработках, предусматривающих создание матрикса, имитирующего нишу СК *in vivo*. Ниша стволовых тканеспецифичных клеток представляет собой анатомически определенное микроокружение этих клеток и является чрезвычайно важной для регуляции их поведения. Ниша СК расположена между плазмолеммой миофибриллы и базальной пластинкой, так что в ее апикальной части СК получают сигналы от миофибрилл, а в базальной — от базальной пластинки. Именно в соответствии с этими сигналами СК выбирают или путь самообновления, или путь дифференцировки [79, 80]. Важно, что взаимодействия между нишей и СК реципрокны: СК также экспрессируют ряд молекул для взаимосвязи с компонентами ниши. В результате этих сложных взаимодействий и происходит регуляция процессов самоподдержания и дифференцировки СК [81—83].

Совершенно очевидно, что зависимость СК от регулирующего влияния ниши — одна из возможных причин потери их миогенного потенциала в процессе культивирования после извлечения из мышечной ткани [84, 85].

Доказательством тому служат эксперименты по трансплантации изолированных мышечных волокон в мышцы мышей, поврежденные радиацией. Эти исследования показали, что из нескольких СК пересаженного мышечного волокна образуется более 100 новых мышечных волокон, содержащих тысячи мышечных ядер [58, 79].

В связи с этим одним из эффективных способов оптимизации культивирования СК/миообластов может стать использование матрикса (скаффолда), в условиях *in vitro* имитирующего нишу этих клеток. Так, С. Bentzinger с соавторами (2013) показали, что добавление в культуральную среду субстратов и/или белков МКМ, таких, как фибронектин или коллаген VI, способствует в условиях *in vitro* активации процесса самоподдержания СК и повышению их регенеративного потенциала [62].

Исследование, проведенное с использованием матрикса из полиэтиленгликоля, имитирующего структуру мышечной ткани, подтвердило, что культивированные СК в таких условиях сохраняли способность к самоподдержанию и их приживаемость была сравнима с трансплантацией свежесделанных СК [86].

Исследования, проведенные С. Bentzinger с соавторами (2014), которые показали, что экспозиция в течение нескольких часов *ex vivo* свежесделанных СК с белком *Wnt7a* (белок, секретируемый регенерирующими мышечными волокнами) способствует увеличению миграционной способности клеток после внутримышечной трансплантации за счет стимуляции сигнального пути, регулирующего плоскостную поляризацию данных клеток [63].

Следует отметить, что идентификация субпопуляции «истинных» стволовых СК (к примеру, *Pax7+*/*Myf5-* или еще менее комитированных клеток-предшественников) будет способствовать повышению миогенного и регенеративного потенциалов культивированных СК/миообластов.

В этом плане особый интерес представляют исследования С. Collins с соавторами (2005), которые показали, что трансплантированные СК, выделенные из различных групп мышц организма, могут обладать различным регенеративным потенциалом [79]. Так, в результате трансплантации в мышцы мышей СК, выделенных из EDL-мышц, были получены более крупные кластеры мышц за более короткий срок (3 недели), чем при применении СК, выделенных из TA-мышц (5 недель).

Таким образом, возможность идентификации СК, обладающих наиболее высокими регенеративным потенциалом и способностью к самоподдержанию, а также разработка оптимального «прототипа» ниши помогут создать наиболее эффективную клеточную технологию для лечения пациентов с мышечными заболеваниями.

Заключение

Применение СК в качестве ключевой составляющей клеточной терапии пациентов с мышечными заболеваниями, как и любой метод, имеет свои плюсы и минусы. К его доказанным преимуществам следует отнести:

- надежную идентификацию СК как по их анатомической локализации (расположению под базальной мембраной мышечного волокна), так и по экспрессии ряда хорошо изученных маркеров, позволяющих исследовать процессы самоподдержания и дифференцировки *in vivo*;
- возможность использования автоматизированных методов (FACS) для быстрого выделения СК благодаря экспрессии ими ряда хорошо изученных маркеров (таблица);
- изученность условий культивирования СК, что позволяет проводить *in vitro* амплификацию и модификацию (фармакологическую или генетическую) СК перед их трансплантацией;
- способность СК к самоподдержанию и миогенной дифференцировке;
- возможность идентифицировать наименее коммитированные клетки;
- исследованность программы дифференцировки: получено достаточно много данных относительно транскрипционной сети, регулирующей активацию, пролиферацию и дифференцировку СК (рис. 2), что открывает возможность управления функционированием и программированием СК перед трансплантацией и после нее;
- доказанность эффективности использования СК и их производных в регенеративной медицине в доклинических и клинических исследованиях.

Ряд исследователей отмечает известные на сегодняшний день недостатки использования СК в клеточной терапии мышечных дистрофий: невозможность системного введения — в настоящее время СК и их производные используются только для внутримышечных инъекций; ограниченность миграции трансплантированных миобластов из мест инъекции; отторжение введенных клеток иммунной системой реципиента, так как трансплантируют пока только аллогенные миобласты, что требует использования иммунодепрессантов; снижение миогенного потенциала СК в процессе их культивирования.

Однако проблемы, обусловленные «несовершенством» терапии СК, служат дополнительной мотивацией для поиска новых путей их решения — как с применением сателлитных клеток и их производных, так и других клеточных популяций, обладающих миогенным потенциалом.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-25-00166).

References

1. McCullagh K., Perlingeiro R. Coaxing stem cells for skeletal muscle repair. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015; 84: 198-207.
2. Shi X., Garry D.J. Muscle stem cells in development, regeneration, and disease. *Genes Dev.* 2006; 20: 1692-708.
3. Kobayashi Y., Rader E., Crawford R. et al. Sarcolemma-localized nNOS is required to maintain activity after mild exercise. *Nature.* 2008; 456: 511-5.
4. Kazuki Y., Hiratsuka M., Takiguchi M. et al. Complete genetic correction of iPS cells from Duchenne muscular dystrophy. *Mol. Ther.* 2010; 18: 386-93.
5. Tedesco F., Hoshiya H., D'Antona G. et al. Stem cell-mediated transfer of a human artificial chromosome ameliorates muscular dystrophy. *Sci. Transl. Med.* 2011; 3: 96-78.
6. Rahimov F., Kunkel L. The cell biology of disease: cellular and molecular mechanisms underlying muscular dystrophy. *J Cell Biol.* 2013; 201(4): 499-510.
7. Emery A. The muscular dystrophies. *Lancet.* 2002; 359: 687-695.
8. Ehmsen J., Poon E., Davies K. The dystrophin-associated protein complex. *J Cell Sci.* 2002; 12: 2801-3.
9. Durbeej M., Campbell K. Muscular dystrophies involving the dystrophin glycoprotein complex an overview of current models. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2002; 12: 349-61.
10. Sinha M., Jang Y., Oh J., Khong D. et al. Restoring systemic GDF11 levels reverses age-related dysfunction in mouse skeletal muscle. *Science.* 2014; 344: 649-52.
11. Matsumura K., Ohlendieck K., Ionasescu V. et al. The role of the dystrophin-glycoprotein complex in the molecular pathogenesis of muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord.* 1993; 3: 533-5.
12. Dalkilic L., Kunkel L. Muscular dystrophies: genes to pathogenesis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2003; 13: 231-8.
13. Emery A. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases- a world survey. *Neuromuscular Disorders.* 1991; 1: 19-29.
14. Farini A., Razini P., Erratico S. et al. Cell Based Therapy for Duchenne Muscular Dystrophy. *J Cell. Physiol.* 2009; 221: 526-34.
15. Biggar W., Harris V., Eliasoph L. Long-term benefits of deflazacort treatment for boys with Duchenne muscular dystrophy in their second decade. *Neuromuscul Disord.* 2006; 6: 249-55.
16. McClorey G., Moulton H., Iversen P. et al. Antisense oligonucleotide-induced exon skipping restores dystrophin expression in vitro in a canine model of DMD. *Gene Ther.* 2006; 13: 1373-81.
17. Chamberlain J. Gene therapy of muscular dystrophy. *Hum. Mol. Genet.* 2002; 11: 2355-62.
18. Long C., McAnally J., Shelton J. et al. Prevention of muscular dystrophy in mice by CRISPR/Cas9-mediated editing of germline DNA. *Science.* 2014; 345(6201):1184-8.
19. Xiaozhong S., Garry D. Muscle stem cells in development, regeneration, and disease. *Genes and Development.* 2006; 20(13):1692-708.
20. Meregalli M., Farini A., Sitziaand G., Torrente Y. Advancements in stem cells treatment of skeletal musclewasting. *Pathophysiology of skeletal muscle.* 2014; 5:1-12.
21. Flanigan K., Campbell K., Viollet L. et al. Anti-dystrophin Tcell responses in Duchenne muscular dystrophy: prevalence and a glucocorticoid treatment effect. *Hum. Gene Ther.* 2013; 24: 797-806.
22. Buckingham M., Bajard L., Chang T. et al. The formation of skeletal muscle: from somite to limb. *J Anat.* 2003; 202: 59-68.

23. Judson R., Zhang R., Rossi F. Tissue-resident mesenchymal stem/progenitor cells in skeletal muscle: collaborators or saboteurs? *FEBS Journal*. 2013; 280: 4100-8.
24. Burdzinska A., Gala K., Pczek L. Myogenic stem cells. *Folia Histochem Cytobiol*. 2008; 46 (4): 401-12.
25. Petrof B., Shrager J., Stedman H. et al. Dystrophin protects the sarcolemma from stresses developed during muscle contraction. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1993; 90: 3710-4.
26. Blau H., Webster C., Pavlath G. Defective myoblasts identified in Duchenne muscular dystrophy. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1983; 80: 4856-60.
27. Gros J., Manceau M., Thome V. A common somitic origin for embryonic muscle progenitors and satellite cells. *Nature*. 2005; 435: 954-8.
28. Seale P., Asakura A., Rudnicki M. The potential of muscle stem cells. *Dev. Cell*. 2001; 1: 333-42.
29. Charge S., Rudnicki M. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol. Rev*. 2004; 84: 209-38.
30. Collins C., Partridge T. Self-renewal of the adult skeletal muscle satellite cell. *Cell Cycle*. 2005; 4: 1338-41.
31. Anderson J. The satellite cell as a companion in skeletal muscle plasticity: currency, conveyance, clue, connector and colander. *J. Exp. Biol*. 2006; 209: 2276-2292.
32. Zammit P., Partridge T., Yablonka-Reuveni Z. The skeletal muscle satellite cell: The stem cell that came in from the cold. *J of Histochemistry and Cytochemistry*. 2006; 54: 1177-91.
33. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J of Biophysical and Biochemical Cytology*. 1961; 9: 493-5.
34. Sambasivan R., Tajbakhsh S. Skeletal muscle stem cell birth and properties. *Semin. Cell Dev. Biol*. 2007; 18: 870-82.
35. Ordahl C., Williams B., Denetclaw W. Determination and morphogenesis in myogenic progenitor cells: An experimental embryological approach. *Curr. Top. Dev. Biol*. 2000; 48: 319-67.
36. Odintsova I.A., Chepurnenko M.N., Komarova A.S. Myogenic satellite cells are a cambial reserve of muscle tissue. *Genes and cells*. 2014; 9 (1): 6-14. (in Russian)
37. Fukada S., Uezumi A., Ikemoto M. et al. Molecular signature of quiescent satellite cells in adult skeletal muscle. *Stem Cells*. 2007; 25: 2448-59.
38. Gnocchi V., White R., Ono Y. et al. Further characterisation of the molecular signature of quiescent and activated mouse muscle satellite cells. *PLoS ONE*. 2009; 4: 5205.
39. Seale P., Sabourin L., Gargis-Gabardo A. et al. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell*. 2000; 102: 777-86.
40. Wang Y., Dumont N., Rudnicki M. Muscle stem cells at a glance. *J of Cell Science*. 2014; 127: 1-6.
41. Relaix F., Montarras D., Zaffran S. et al. Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *J of Cell Biology*. 2006; 172: 91-102.
42. Day K., Shefer G., Richardson J. et al. Nestin-GFP reporter expression defines the quiescent state of skeletal muscle satellite cells. *Developmental Biology*. 2007; 304: 246-59.
43. Horst D., Ustanina S., Sergi C. et al. Comparative expression analysis of Pax3 and Pax7 during mouse myogenesis. *The International Journal of Developmental Biology*. 2006; 50: 47-54.
44. Chang N., Rudnicki M. Satellite cells: The Architects of skeletal muscle current topics. *The International Journal of Developmental Biology*. 2014; 107: 161-77.
45. Kuang S., Charge S., Seale P. et al. Distinct roles for Pax7 and Pax3 in adult regenerative myogenesis. *The Journal of Cell Biology*. 2006; 172: 103-13.
46. Grounds M., McGeachie J. A model of myogenesis in vivo, derived from detailed autoradiographic studies of regenerating skeletal muscle, challenges the concept of quantal mitosis. *Cell Tissue Res*. 1987; 250: 563-9.
47. Bjornson C., Cheung T., Liu L. et al. Notch signaling is necessary to maintain quiescence in adult muscle stem cells. *Stem Cells*. 2012; 30: 232-42.
48. Wen Y., Bi P., Liu W., Asakura A. Constitutive Notch activation upregulates Pax7 and promotes the self-renewal of skeletal muscle satellite cells. *Mol. Cell. Biol*. 2012; 32: 2300-11.
49. Fukada S., Yamaguchi M., Kokubo H. et al. Hesr1 and Hes3 are essential to generate undifferentiated quiescent satellite cells and to maintain satellite cell numbers. *Development*. 2011; 138: 4609-19.
50. Kuang S., Rudnicki M. The emerging biology of satellite cells and their therapeutic potential. *Trends in Molecular Medicine*. 2007; 14(2): 82-91.
51. Soleimani V., Punch V., Kawabe Y. et al. Transcriptional dominance of Pax7 in adult myogenesis is due to high-affinity recognition of homeodomain motifs. *Developmental Cell*. 2012; 22: 1208-20.
52. Bentzinger C., Wang Y., Rudnicki M. Building muscle: molecular regulation of myogenesis. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2012; 4 (2). pii: a008342. doi: 10.1101/cshperspect.a008342.
53. Moncaut N., Rigby P., Carvajal J. Dial M (RF) for myogenesis. *FEBS J*. 2013; 280: 3980-90.
54. Hu P., Geles K., Paik J., DePinho R. et al. Codependent activators direct myoblast-specific MyoD transcription. *Developmental Cell*. 2008; 15: 534-46.
55. McKinnell I., Ishibashi J., Le Grand F. et al. Pax7 activates myogenic genes by recruitment of a histone methyltransferase complex. *Nature Cell Biology*. 2008; 10: 77-84.
56. Olguin H., Olwin B. Pax-7 up-regulation inhibits myogenesis and cell cycle progression in satellite cells: A potential mechanism for self-renewal. *Developmental Biology*. 2004; 275: 375-88.
57. Sacco A., Doyonnas R., Kraft P. et al. Self-renewal and expansion of single transplanted muscle stem cells. *Nature*. 2008; 456: 502-6.
58. Rocheteau P., Gayraud-Morel B., Siegl-Cachedenier I. et al. A subpopulation of adult skeletal muscle stem cells retains all template DNA strands after cell division. *Cell*. 2012; 148: 112-25.
59. Chakkalakal J., Jones K., Basson M. The aged niche disrupts muscle stem cell quiescence. *Nature*. 2012; 490: 355-60.
60. Shinin V., Gayraud-Morel B., Gomes D. Asymmetric division and cosegregation of template DNA strands in adult muscle satellite cells. *Nat Cell Biol*. 2006; 8: 677-87.
61. Kuang S., Kuroda K., Le Grand F., Rudnicki M. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell*. 2007; 129: 999-1010.
62. Bentzinger C., Wang Y., von Maltzahn J. et al. Fibronectin regulates Wnt7a signaling and satellite cell expansion. *Cell Stem Cell*. 2013; 12: 75-87.
63. Bentzinger C., von Maltzahn J., Dumont N., et al. Wnt7a stimulates myogenic stem cell motility and engraftment resulting in improved muscle strength. *J Cell Biol*. 2014; 205: 97-111.
64. Asakura A., Komaki M., Rudnicki M. Muscle satellite cells are multipotential stem cells that exhibit myogenic, osteogenic, and adipogenic differentiation. *Differentiation*. 2001; 68: 245-53.
65. Yin H., Pasut A., Soleimani V. et al. MicroRNA-133 controls brown adipose determination in skeletal muscle satellite cells by targeting Prdm16. *Cell Metabolism*. 2013; 17: 210-24.

66. Cappellari O., Benedetti S., Innocenzi A. et al. Dll4 and PDGF-BB convert committed skeletal myoblasts to pericytes without erasing their myogenic memory. *Developmental Cell*. 2013; 24: 586-99.
67. Beauchamp J., Heslop L., Yu D., Tajbakhsh S. Expression of CD34 and MYF5 defines the majority of quiescent adult skeletal muscle satellite cells. *J Cell Biol*. 2000; 151: 1221-34.
68. Zammit P., Golding J., Nagata Y. et al. Muscle satellite cells adopt divergent fates: A mechanism for self-renewal? *The Journal of Cell Biology*. 2004; 166: 347-57.
69. Beauchamp J. R., Morgan J. E., Pagel C.T. A. Dynamics of myoblast transplantation reveal a discrete minority of precursors with stem cell-like properties as the myogenic source. *The Journal of Cell Biology*. 1999; 144: 1113-22.
70. Partridge T., Morgan J., Coulton G. et al. Conversion of mdx myofibres from dystrophin-negative to -positive by injection of normal myoblasts. *Nature*. 1989; 337: 176-9.
71. Gussoni E., Pavlath G., Lanctot A. et al. Normal dystrophin transcripts detected in Duchenne muscular dystrophy patients after myoblast transplantation. *Nature*. 1992; 356: 435-8.
72. Gussoni E., Soneoka Y., Strickland C.D. et al. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature*. 1999; 401: 390-4.
73. Camirand G., Rousseau J., Ducharme M. et al. Dystrophin expression in miofibers of Duchenne muscular dystrophy patients following intramuscular injections of normal myogenic cells. *Molecular Therapy*. 2004; 9 (3): 475-82.
74. Peault B., Rudnicki M., Torrente Y. et al. Stem and progenitor cells in skeletal muscle development, maintenance, and therapy. *Mol Ther*. 2007; 15: 867-77.
75. Conboy I., Conboy M., Wagers A. et al. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature*. 2005; 433: 760-4.
76. Transplantation of Myoblasts to Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) Patients. Available at: <http://clinicaltrials.gov/show/NCT02196467> (assessed 5 May 2015).
77. Skuk D., Goulet M., Roy B. et al. Dystrophin expression in muscles of duchenne muscular dystrophy patients after high-density injections of normal myogenic cells. *J Neuropathol Exp. Neurol*. 2006; 65 (4): 371-86.
78. Darabi R., Arpke R., Irion S. et al. Human ES- and iPS-derived myogenic progenitors restore DYSTROPHIN and improve contractility upon transplantation in dystrophic mice. *Cell Stem Cell*. 2012; 10: 610-19.
79. Collins C., Olsen I., Zammit P. et al. Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell*. 2005; 122: 289-301.
80. Cosgrove B., Sacco A., Gilbert P., Blau H. A home away from home: challenges and opportunities in engineering in vitro muscle satellite cell niches. *Differentiation*. 2009; 78: 185-94.
81. Golding J., Calderbank E., Partridge T. Skeletal muscle stem cells express anti-apoptotic ErbB receptors during a transition from quiescence. *Exp. Cell. Res*. 2007; 313: 341-56.
82. Le Grand F., Jones A., Seale V. et al. Wnt 7a activates the planar cell polarity pathway to drive the symmetric expansion of satellite stem cells. *Cell Stem Cell*. 2009; 4: 535-47.
83. Brack A., Rando T. Intrinsic changes and extrinsic influences of myogenic stem cell function during aging. *Stem Cell Rev*. 2007; 3: 226-37.
84. Dykstra B., Ramunas J., Kent D. et al. High-resolution videomonitoring of hematopoietic stem cells cultured in single-cell array identifies new features of self-renewal. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2006; 103: 8185-90.
85. Kuang S., Gillespie M., Rudnicki M. Niche regulation of muscle satellite cell self-renewal and differentiation. *Cell Stem Cell*. 2008; 2: 22-31.
86. Gilbert P., Havenstrite K., Magnusson K. et al. Substrate elasticity regulates skeletal muscle stem cell self-renewal in culture. *Science*. 2010; 329: 1078-81.

Received 28.05.15

Сведения об авторах:

Зорин Вадим Леонидович, к.биол.н., зав. отд. регенеративной медицины, Институт стволовых клеток человека

Зорина Алла Ивановна, к.м.н., гл. науч. сотр., Институт стволовых клеток человека

Пулин Андрей Алексеевич, к.м.н., зав. криобанком Центра биомедицинских технологий, ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Копнин Павел Борисович, к.м.н., зав. лаб. цитогенетики, НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН