

## ОСОБЕННОСТИ ГЕМОПОЭЗА В ЖЕЛТОЧНОМ МЕШКЕ ЧЕЛОВЕКА

Трубникова А.А., Дубинина Н.Н.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г.  
Новосибирск, Россия

**Резюме.** На раннем этапе развития человека кроветворение осуществляется в стенке желточного мешка и не ограничивается образованием эритроцитов эмбрионального типа. В этом органе дифференцируются также мегакариоциты, резидентные макрофаги, тучные клетки и предшественники микроглии. Роль желточного мешка как первого кроветворного органа у человека оказывается гораздо шире, чем это предполагалось ранее.

**Ключевые слова:** гемопоэз, желточный мешок человека, гемопоэтические стволовые клетки, эритроциты, макрофаги, мегакариоциты

## FEATURES OF HEMATOPOIESIS IN HUMAN YOLK SAC

A.A. Trubnikova, N.N. Dubinina

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

**Abstract.** In early human development, hematopoiesis takes place in the wall of the yolk sac and is not limited to the formation of embryonic-type red blood cells. Megakaryocytes, resident macrophages, mast cells and microglia precursors also differentiate in this organ. The role of the yolk sac as the first human hematopoietic organ appears to be much broader than previously thought.

**Keywords:** hematopoiesis, human yolk sac, hematopoietic stem cells, erythrocytes, macrophages, megakaryocytes

**Введение.** Длительное время считалось, что гемопоэз в онтогенезе человека осуществляется в две последовательные стадии. «Примитивное», кратковременное кроветворение протекает в стенке желточного мешка с 3-ей недели эмбриогенеза и приводит к образованию первичных эритроцитов и некоторых форм макрофагов. Позже, начиная с 5-6 недели, на смену этому этапу приходит окончательный (дефинитивный) гемопоэз, в результате которого формируются все типы миелоидных клеток, лимфоцитов, а также эритроциты с взрослым фенотипом.

За последние десятилетия указанная модель кроветворения была в значительной степени пересмотрена и расширена, чему послужили многочисленные исследования с применением современных генных технологий, эпигенетических и транскрипционных методов, а также эксперименты с использованием новых животных моделей.

В современной литературе практически отсутствуют данные, системно и детально характеризующие особенности мезобластического кроветворения. В частности, нет четкого понимания в отношении видов формирующихся гемопоэтических элементов, их морфологических особенностей, источников развития и регуляции самого процесса в целом. При этом важно осознавать, что любые новые факты в данной области представляют собой не только теоретический интерес. Они крайне важны для понимания основных закономерностей «желточного» кроветворения и поиска путей, направленных на ограничение пролиферативного потенциала и дифференцировки определенных гемопоэтических элементов, имеющих место у гематологических пациентов.

**Цель исследования:** обзор электронной литературы (статей), посвященных процессу гемопоэза в желточном мешке человека.

**Материалы и методы.** Проведен компьютерный поиск литературы с использованием англоязычной текстовой базы данных медицинских и биологических публикаций PubMed. Для поиска использованы следующие ключевые слова: гемопоэз, желточный мешок человека, гемопоэтические стволовые клетки. Всего было проанализировано около 40 источников литературы за период 1996 - 2023 гг.

**Результаты и обсуждение.** Во время эмбриогенеза клетки крови постоянно образуются из пула клеток-предшественников, которые, в свою очередь, возникают из гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). У человека, как и других позвоночных, кроветворение включает три отдельные волны (поколения предшественников), при этом первые две тесно связаны с желточным мешком (рис. 1).

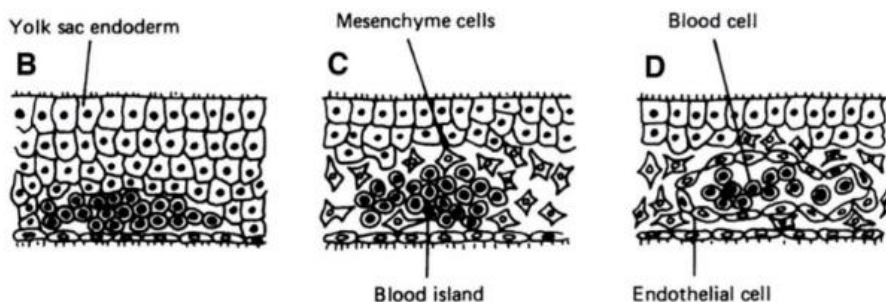
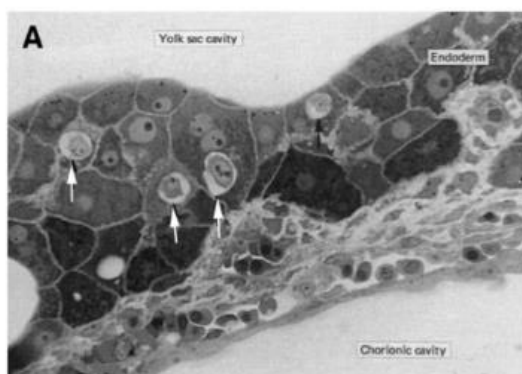


Рис. 1. Схема, демонстрирующая формирование клеток крови и сосудов в желточном мешке человека (по данным Downs К.М., 2020; Takashina Т., 1987) [4, 14].

(А) Предполагаемые клетки крови (белые стрелки), 6-ая неделя беременности. В гипобласте (первичной энтодерме) образуется кровяной островок. Клетки гипобласта превращаются в мезенхиму, которая в последующем становится примитивным капилляром. Расположенные рядом клетки гипобласта продолжают дифференцироваться в клетки крови и мезенхиму (B-D).

Во время начального периода формируются ядродержащие “примитивные” эритроциты. Они являются первыми переносчиками кислорода для зародыша и крайне необходимы для поддержания его жизнеспособности. В тот же период в желточном мешке образуются некоторые резидентные макрофаги, которые в дальнейшем, мигрируя в ЦНС и кожные покровы эмбриона, участвуют в формировании микроглии головного мозга и клеток Лангерганса (внутриэпидермальных макрофагов) [4].

Вторая волна гемопоэза приводит к появлению эритро-миелоидных (ЭМП) и мультипотентных предшественников (МПП), которые в дальнейшем дифференцируются в фетальные Т-клетки. Изучение особенностей дифференцировки этих предшественников в культуре ткани желточного мешка предоставляет уникальную возможность для понимания участия этих клеток в дебюте лимфопролиферативных патологических процессов.

Третья волна кроветворения локализуется в дорсальной части аорты и имеет отношение к продукции стволовых гемопоэтических клеток «взрослого» типа. Эти клетки образуются в течение короткого периода эмбрионального развития из производных мезодермы, топографически тесно связанных с эндотелиальными клетками. Их обозначают как незрелые, или пре-ГСК, которые в дальнейшем дифференцируются в аорте или печени плода во взрослые ГСК, что сопровождается экспрессией на их поверхности МНС класса I, а также CD45, CD150, Sca-1 при отсутствии экспрессии CD48. Следует заметить, что зрелые ГСК появляются только на поздних стадиях эмбрионального развития и продуцируют эритроциты дефинитивного типа.

Недавние исследования показали, что в желточном мешке человека одновременно присутствуют различные виды малодифференцированных гемопоэтических элементов, а также примитивные эритробласты и мультипотентные гемопоэтические предшественники (МГП), возникающие здесь еще до появления ГСК. Вероятно, они заполняют временной промежуток между примитивным и дефинитивным эритропоэзом и кроветворением, старт которому дают непосредственно ГСК.

Аналогичные результаты были получены в ходе исследований, проведенных на лабораторных животных (мышях) (рис. 2). Полученные данные позволили выдвинуть предположение о

существовании в желточном мешке позвоночных популяции клеток, происходящей из ГСК и занимающей «промежуточное» положение между примитивным и дефинитивным гемопоэзом [2].

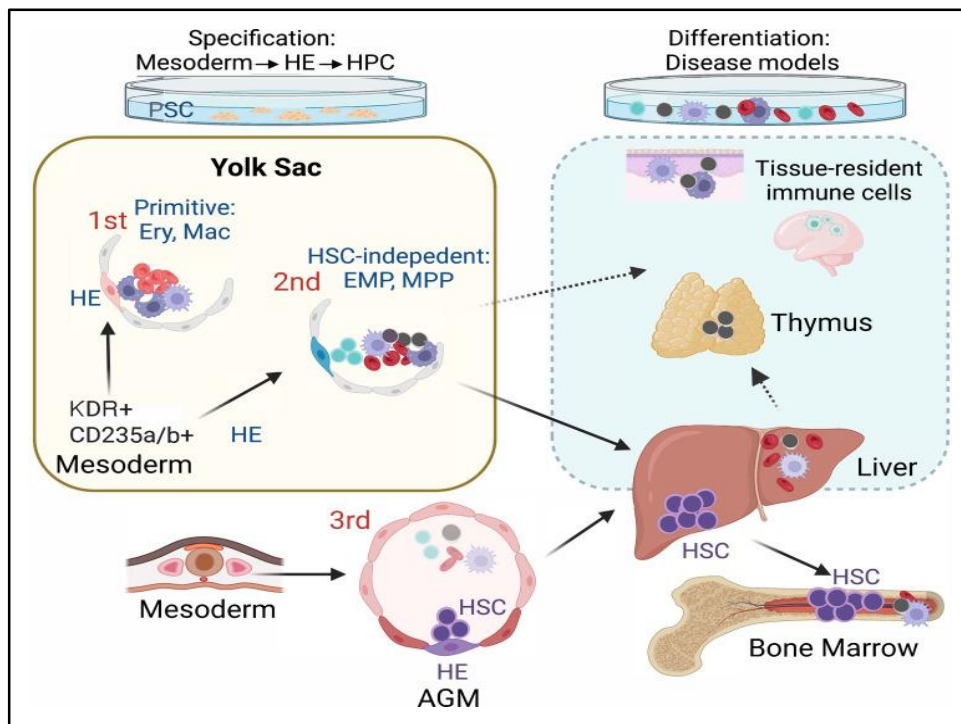


Рис 2. Схема эмбрионального кроветворения (по данным Bian Z. et al, 2020) [2]

Направленная дифференцировка плюрипотентных стволовых клеток человека с помощью Activin A, BMP4 и FGF2 приводит к появлению KDR + CD235a/b+ мезодермы, дающей начало двум последовательным волнам кроветворения в желточном мешке.

HE - гемогенный эндотелий, Ery - эритроциты, Mac - макрофаги, HSC-independent EMP, MPP - независимое от ГСК кроветворение: эритро-миелоидный предшественник, мультипотентный гемопоэтический предшественник, AGM - аорто-гонадо-мезонефрос, HSC - гемопоэтические стволовые клетки

В процессе филогенеза эритропоэз стал важнейшей составляющей эмбрионального кроветворения, поскольку пассивная диффузия кислорода в плазму не смогла бы полностью удовлетворять возрастающие в нем потребности развивающегося зародыша. Ключевым событием данного процесса по праву считается синтез гемоглобина, благодаря которому оказался возможен эффективный транспорт кислорода к высокодифференцированным эмбриональным тканям.

В самом деле, примитивные ядросодержащие эритроциты являются первыми гемопоэтическими клетками, которые появляются у человеческого эмбриона уже на этапе мезобластического кроветворения. Они оказываются в шесть раз крупнее зрелых форм и содержат шестикратное (в сравнении с дефинитивными) количество фетального гемоглобина. В период своего

созревания их предшественники, примитивные эритробласты, экспрессируют как эмбриональные ( $\zeta$ ,  $\beta$ H1,  $\epsilon\gamma$ ), так и взрослые ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2) глобины. Эксперименты, проведенные на эмбрионах мышей, в организме которых отсутствовали примитивные эритроциты, показали, что такие особи в дальнейшем не выживали. Следовательно, транспортировка и обмен газов, опосредованный эритроцитами первой волны, имеет решающее значение для нормального развития эмбриона и плода.

Если роль эритроцитов в транспорте и газообмене посредством гемоглобина считается общепризнанной, то гораздо в меньшей степени известным фактом остается их непосредственное участия в регуляции иммунных реакций. Согласно данным литературы [3, 5, 9], эмбриональные эритроциты могут подавлять иммунный ответ при внедрении инфекционных агентов и усиливать толерантность материнского организма к развивающемуся плоду посредством выработки фермента аргиназы-2.

У приматов эти клетки дополнительно экспрессируют на своей поверхности рецептор комплемента 1 (CR1/CD35), который, по-видимому, имеет решающее значение для транспортировки иммунных комплексов в печень и селезенку. В этих органах тканевые макрофаги осуществляют поглощение и разрушение таких комплексов, предотвращая тем самым развитие ряда иммунных заболеваний, в частности, системной красной волчанки [8].

Несомненно, что у двух типов эритропоэза существует рецепторная передача сигналов посредством цитокинов для правильного развития и функционирования всего формирующегося дифферона. Однако, цитокиновая зависимость у примитивного и взрослого эритропоэза различна. В частности, FLK1 (известный как VEGFR2) необходим для осуществления примитивного эритропоэза [13]. В то же время передача сигналов от ряда цитокиновых рецепторов на стадии примитивного эритропоэза отсутствует, несмотря на их положительную экспрессию в клетках желточного мешка [10, 16, 17].

В исследовании на мышах было продемонстрировано, что еще до появления в желточном мешке эритро-миелоидных предшественников, в его составе присутствуют два различных пула коммитированных макрофагов (Мф). Возможно, первая их популяция имеет материнское происхождение. Вторая же популяция этих клеток происходит от монопотентных предшественников, которые появляются в стенке желточного мешка незадолго до ЭМП.

И монопотентные Мф, и эритро-миелоидные предшественники имеют общий CD45 - c-Kit<sup>+</sup> фенотип. Оба типа клеток демонстрируют высокую пролиферативную способность и дифференцируются в F4/80<sup>+</sup> CX 3 CR1<sup>+</sup> макрофаги. Эти две волны также генерируются *in situ* на ранних стадиях развития желточного мешка в отсутствие мультипотентных лимфо-миелоидных предшественников.

Роль «желточных» макрофагов оказывается крайне важной для дальнейшего развития зародыша. Установлено, что моноциты-макрофаги желточного мешка с током циркулирующей крови еще до формирования костного мозга заселяют формирующийся головной мозг эмбриона [1]. Кроме того, наследственные генетические дефекты таких макрофагов у мышей и людей приводят к серьезным и часто фатальным нарушениям развития, которые включают задержку развития нервной системы и деменцию [6, 11], деформацию костей [7], дефекты восстановления и ремоделирования тканей печени, селезенки, репродуктивной системы, легких, вызывают дисфункции сердечно-сосудистой системы, приводят к развитию хронического воспаления и аутоиммунных реакций.

Дифференцировка эритро-миелоидных предшественников, которая протекает в желточном мешке во вторую волну гемопоэза, приводит к формированию тучных клеток [12], хотя ранее предполагалось, что они образуются из базофилов крови или из местных гистиоцитов-предшественников.

Наименее изученной составляющей эмбрионального гемопоэза у человека остается тромбоцитопоз. При его исследовании Wang H. с сотр. [15] обнаружили в желточном мешке гетерогенные субпопуляции мегакариоцитов с различными путями развития и паттернами экспрессии генов, которые могут отражать их раннюю функциональную специализацию.

**Выводы.** В процессе эмбрионального развития в желточном мешке человека образуются первые примитивные клетки крови. Они возникают из монопотентных предшественников и обладают свойствами, отличными от их окончательных аналогов. Такая дифференцировка позволяет быстро производить все клетки крови, необходимые для раннего развития эмбриона. Эмбриональный гемопоэз является критическим событием, влияющим как на жизнеспособность эмбриона, так и на здоровье взрослого человека. Однако, на сегодняшний день ни одна из существующих схем не воссоздает детально процесс мезобластического кроветворения, как и не отвечает на вопрос о точном происхождении примитивных гемопоэтических клеток.

### **Список литературы**

1. Деев Р.В., Диконенко М.В., Гречаник У.П. Гистогенез микроглии: история изучения // Гены и клетки. – 2019. – Т. 14, № 1. – С. 6-15.
2. Bian Z., Gong Y., Huang T. et al. Deciphering human macrophage development at single-cell resolution // Nature. – 2020. – N. 582. P. 571-576.
3. Delyea C, Bozorgmehr N, Koleva P. et al. CD71+ Erythroid Suppressor Cells Promote Fetomaternal Tolerance through Arginase-2 and PDL-1 // J Immunol. – 2018. – V. 200, N. 12. – P. 4044-4058.
4. Downs K.M. Is extra-embryonic endoderm a source of placental blood cells? // Exp Hematol. – 2020. – N. 89. – P.37-42.

5. Elahi S., Ertelt J.M., Kinder J.M. et al. Immunosuppressive CD71+ erythroid cells compromise neonatal host defence against infection // *Nature*. – 2013. – N 504. P. 158-162.
6. Erbllich B., Zhu L., Etgen A.M. et al. Absence of colony stimulation factor-1 receptor results in loss of microglia, disrupted brain development and olfactory deficits // *PLoS One*. – 2011. V. 6, N 10. – doi: 10.1371/journal.pone.0026317.
7. Link T.M., Park U., Vonakis B.M. et al. TRPV2 has a pivotal role in macrophage particle binding and phagocytosis // *Nat Immunol*. – 2010. V. 11, N 3. – P. 232-239.
8. Manderson A.P., Botto M., Walport M.J. The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus // *Annu Rev Immunol*. – 2004. – V. 22. – P. 431-456.
9. Munder M. Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system // *Br J Pharmacol*. – 2009. – V. 158, N 3. – P. 638-651.
10. Ogawa M., Nishikawa S., Yoshinaga K. et al. Expression and function of c-Kit in fetal hemopoietic progenitor cells: transition from the early c-Kit-independent to the late c-Kit-dependent wave of hemopoiesis in the murine embryo // *Development*. – 1993. V. 117, N 3. – P. 1089-1098.
11. Oosterhof N., Chang I.J., Karimiani E.G. et al. Homozygous Mutations in CSF1R Cause a Pediatric-Onset Leukoencephalopathy and Can Result in Congenital Absence of Microglia // *Am J Hum Genet*. – 2019. – V. 104, N 5. – P. 936-947.
12. Ribatti D., d'Amati A. Hematopoiesis and Mast Cell Development // *Int J Mol Sci*. – 2023. V. 24, N 13. – doi: 10.3390/ijms241310679.
13. Shalaby F., Ho J., Stanford W.L. et al. A requirement for Flk1 in primitive and definitive hematopoiesis and vasculogenesis // *Cell*. – 1997. – V. 89, N 6. – P. 981-990.
14. Takashina T. Haemopoiesis in the human yolk sac. // *J Anat*. – 1987. – V. 151. – P. 125-135.
15. Wang H., He J., Xu C. et al. Decoding Human Megakaryocyte Development // *Cell Stem Cell*. – 2021. – V. 28, N 3. – P. 535-549.
16. Yamane T., Ito C., Washino A. et al. Repression of Primitive Erythroid Program Is Critical for the Initiation of Multi-Lineage Hematopoiesis in Mouse Development // *J Cell Physiol*. – 2017 – V. 232, N. 2. – P. 323-330.
17. Yamane T., Washino A., Yamazaki H. Common developmental pathway for primitive erythrocytes and multipotent hematopoietic progenitors in early mouse development // *Stem Cell Reports*. – 2013. – V. 1, N 6. – P. 590-603.