

ОБЗОРЫ

УДК 611.379.018:612.375

03.03.01 Физиология

DOI: 10.37903/vsgma.2020:3.9

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗВЕЗДЧАТЫХ КЛЕТОК ЭНДОКРИННЫХ ОСТРОВКОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© Можейко Л.А.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, 230009, ул. Горького, 80**Резюме*

Цель. Дать анализ современных научных сведений о звездчатых клетках островков и их роли в работе эндокринного аппарата поджелудочной железы.

Методика. Изучены и обобщены данные литературы отечественных и зарубежных авторов по этой тематике.

Результаты. Установлено, что звездчатые клетки располагаются во внеклеточном матриксе внутри островков и окружающей их соединительнотканной капсуле. Соответственно их функциональному состоянию различают покоящийся и активированный фенотип этих клеток. Их морфофункциональная характеристика сходна, но не идентична звездчатым клеткам экзокринной паренхимы. Определены генетические, морфологические и фенотипические отличия звездчатых клеток островков и экзокринной ткани. Показано, что в патологических условиях под влиянием активирующих факторов усиливается фиброгенез островковых звездчатых клеток, что сопровождается уменьшением количества β -клеток и нарушением их функции.

Заключение. Паракринная и аутокринная стимуляция островковых звездчатых клеток при таких заболеваниях поджелудочной железы, как сахарный диабет 2 типа, на поздней стадии заболевания может способствовать островковому фиброзу и дисфункции эндокринных клеток.

Ключевые слова: звездчатые клетки, поджелудочная железа, эндокринные островки

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF STELLATE CELLS IN THE ENDOCRINE ISLETS OF THE PANCREAS

Mozheiko L.A.

*Grodno State Medical University, 80, Gor'kogo St., 230009, Grodno, Republic of Belarus**Abstract*

Objective. The aim is to analyze the current scientific data on the stellate cells of islets and their role in the endocrine system of the pancreas.

Methods. The literature data of domestic and foreign authors on this subject was studied and summarized.

Results. It was found that stellate cells are located in the extracellular matrix inside the islets and the surrounding connective tissue capsule. According to their functional state, the resting and activated phenotype of these cells are distinguished. Their morphofunctional characteristics are similar, but not identical to the stellate cells of the exocrine parenchyma. Genetic, morphological and phenotypic differences between stellate cells of islets and exocrine tissue were determined. It is shown that in pathological conditions under the influence of activating factors, fibrogenesis of islet stellate cells increases, which is accompanied by a decrease in the number of β -cells and a violation of their function.

Conclusions. Paracrine and autocrine stimulation of islet stellate cells in pancreatic diseases such as type 2 diabetes at a late stage of the disease can contribute to islet fibrosis and endocrine cell dysfunction.

Keywords: stellate cells, pancreas, endocrine islands

Введение

Звездчатые клетки, подобные гепатическим, обнаружены в поджелудочной железе в 80-х годах прошлого столетия [20]. Их способность в патологических условиях изменять цитофункциональный статус и усиливать синтез и аккумуляцию белков внеклеточного матрикса является предметом изучения многих исследовательских групп различных лабораторий мира [1, 9]. Усиление фиброза связывается, прежде всего, с прогрессированием таких заболеваний поджелудочной железы, как хронический панкреатит и аденокарцинома.

Однако работы последних лет показали важную роль панкреатических звездчатых клеток не только в функционировании экзокринной, но и эндокринной паренхимы железы [16, 26]. Предполагается участие активированных звездчатых клеток в фиброзе островков и дисфункции β -клеток при сахарном диабете 2 типа. Область этих исследований очень актуальна и имеет значительный потенциал для разработки новых методик лечения [22].

Цель исследования заключается в анализе современных литературных сведений о звездчатых клетках панкреатических островков и их роли в работе эндокринного аппарата поджелудочной железы.

Сравнительный анализ звездчатых клеток экзокринной и эндокринной части поджелудочной железы

На начальном этапе изучения звездчатые клетки с длинными отростками были идентифицированы вокруг ацинусов, небольших протоков и кровеносных сосудов только в экзокринной соединительной ткани поджелудочной железы [2, 3, 20]. В последующем подобные клетки с экспрессией гладкомышечного актина (α SMA) и матрикс-продуцирующей активностью были замечены также в соединительной ткани перипанкреатических и интрапанкреатических областей поджелудочной железы животных с моделируемым сахарным диабетом 2 типа и пациентов с этим заболеванием [8, 15]. M. Zha и коллегам, используя коллагеназу, удалось изолировать и идентифицировать популяцию фиброгенетических звездчатых клеток из островков крыс [27]. Эти клетки экспрессировали биомаркеры классических панкреатических звездчатых клеток экзокринной ткани, но не были полностью им идентичны. Они получили название «островковые звездчатые клетки» (ISC) [17, 27]. При сравнительном анализе выявилось, что в них содержится меньше витамина А-депонирующих липидных капелек и *in vitro* быстрее происходит процесс активации и трансформации в α SMA-позитивные клетки, чем в звездчатых клетках экзокринной части органа. Кроме того, островковые звездчатые клетки обладали более низкой скоростью пролиферации и миграции. Результаты детального иммуногистохимического изучения звездчатых клеток эндокринных островков нормальной поджелудочной железы мышей *in vivo* и изолированных и культивируемых звездчатых клеток *in vitro*, а также исследования изолированных островков из панкреатической ткани человека подтвердили данные, полученные в предыдущих работах [26, 28]. Звездчатые клетки обнаруживались не только в междольковой и внутридольковой соединительной ткани экзокринной паренхимы, но и во внеклеточном матриксе внутри островков и окружающей их соединительнотканной капсуле. Они также, как у крыс, обладали схожей, но не идентичной морфологической и фенотипической характеристикой, отличаясь в островках более низкой миграционной и пролиферативной активностью, однако более быстрой способностью к трансдифференцировке.

На основании данных анализа звездчатых клеток поджелудочной железы человека, проведенного с помощью современных транскриптомных технологий, позволяющих работать с единичными клетками (single-cells), предлагается рассматривать островковые звездчатые клетки как подгруппу или субпопуляцию классических панкреатических звездчатых клеток [14, 25]. Аналогично последним, они могут быть разделены на два вида, соответственно фенотипу: покоящиеся и активированные (рис.).

Покоящиеся островковые звездчатые клетки содержат липидные включения, депонирующие ретиноиды в виде пальмитат ретиниловых цитозольных капель. В физиологических условиях эксперимента они синтезируют компоненты внеклеточного матрикса для поддержания тканевого гомеостаза и нормального функционирования эндокринных островков. Иммуногистохимическими методами в них выявляется экспрессия глиального фибриллярного кислого белка (GAFP), десмина, нестина и виментина. Под влиянием различных стимулирующих веществ происходит трансформация покоящихся клеток в миофибробластоподобные (активированный фенотип). Активированные звездчатые клетки специфически экспрессируют α -гладкомышечный актин, который может считаться маркером трансдифференцировки. Они усиливают пролиферацию и генерацию синтеза компонентов экстрацеллюлярного матрикса

(ЕСМ), в том числе коллагена, фибронектина, ламинина и других белков, что сопровождается исчезновением витамин А-содержащих липидных капель [14, 15].

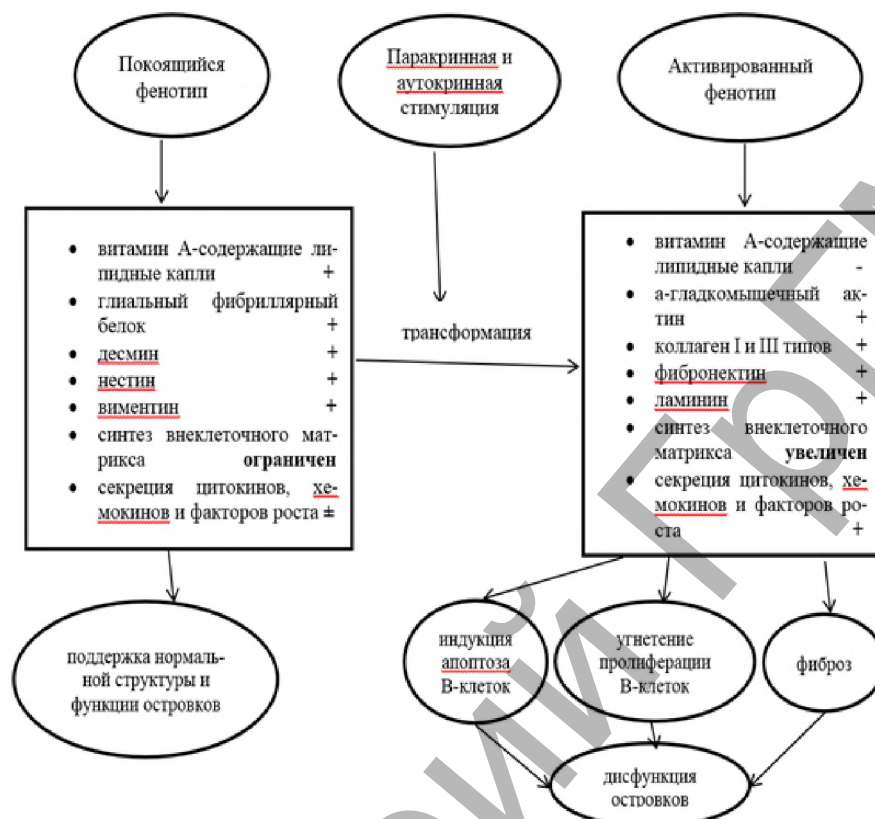


Рис. 1. Характеристика звездчатых клеток эндокринных островков поджелудочной железы

В последнее время для сравнения биологических характеристик звездчатых панкреатических клеток экзокринной ткани и островковых звездчатых клеток, дальнейшего уточнения различий между ними и лучшего понимания функциональной значимости произведен полногеномный секвенирующий анализ этих клеток [19]. Идентифицированы 32 различно экспрессируемых гена, причем установлено, что экспрессия гена коллагена типа 11a1(COL11A1) в островковых звездчатых клетках крыс в 3 раза выше, чем в экзокринной популяции звездчатых клеток. По мнению авторов, это может быть ключевым фактором, от которого зависит отличие патофизиологии островковых звездчатых клеток. Представленные различия транскриптом звездчатых клеток экзокринной и эндокринной частей поджелудочной железы подтвердили на генетическом уровне ранее высказанное мнение, что указанные клетки морфологически и фенотипически схожи, но не идентичны. В работе показано, что звездчатые клетки островков содержат меньше витамин А-депонирующих липидных капель и, возможно, поэтому *in vitro* быстрее их теряют и активируются, чем остальные. Активированные клетки экспрессируют значительное количество α-SMA и компонентов внеклеточного матрикса, что может привести к фиброзу островков, особенно в условиях диабета.

Роль звездчатых клеток в фиброзе эндокринных островков

Изучению роли звездчатых клеток в процессе образования компонентов экстрацеллюлярного матрикса экзокринной части поджелудочной железы в физиологических, а особенно, в патологических условиях посвящено значительное количество исследований [1, 4, 9]. Можно считать доказанным участие их как эффекторных клеток в фиброзных изменениях при таких заболеваниях как хронический панкреатит и аденокарцинома [1, 9]. Фиброгенетическая функция островковых звездчатых клеток, которые являются наиболее значительным источником белков экстрацеллюлярного матрикса островков, изучена меньше.

Первоначально внимание на фиброзные изменения в эндокринных островках обратили при исследовании моделируемого сахарного диабета 2 типа у лабораторных животных и у пациентов с этим заболеванием [10, 12]. При этом, был замечен интересный факт, свидетельствующий, что

наиболее выраженные фиброзные изменения при сахарном диабете 2 типа носят ограниченный характер и наблюдаются только в эндокринных островках без значительного увеличения соединительной ткани в экзокринной паренхиме, в отличие от хронического панкреатита [7]. Это убеждает, что фиброз островков при диабете связан с вовлечением сигнальных путей, отличающихся от экзокринных панкреатических заболеваний [6]. Предположительно при развитии воспалительной реакции активация островковых звездчатых клеток может быть вызвана паракринным путем, локально продуцируемыми цитокинами макрофагов/лимфоцитов, или аутокринно своими же цитокинами [7, 26]. В результате пролиферация и секреторная способность звездчатых клеток значительно увеличивается, сопровождаясь островковым фиброзом. Отмечается, что при медикаментозной инактивации звездчатых клеток параллельно уменьшался фиброз островков [19].

В ряде работ, посвященных изучению механизма фиброгенеза, обсуждается возможное участие в этом процессе ренин-ангиотензиновой системы (RAS) и ангиотензин II сигнального пути (Ang II). Для этой цели звездчатые клетки взрослых крыс изолировали и культивировали в гипергликемических условиях [13]. В результате их пролиферация при высокой концентрации глюкозы увеличивалась в 4 раза по сравнению с условиями низкой её концентрации. При этом отмечалось увеличение уровня Ang II и подъем экспрессии трансформирующего фактора роста бета (TGF- β). Затем заметно увеличивалась экспрессия соединительнотканного фактора роста (CTGF) и коллагеновых белков IV типа. На основании этих результатов исследователи пришли к заключению, что Ang II, индуцируемый высоким уровнем глюкозы, может стимулировать синтез TGF- β , который в последующем приводит к увеличению синтеза белков экстрацеллюлярного матрикса.

Остается вопрос, почему у пациентов при сахарном диабете 2 типа и моделируемой гипергликемией у крыс фиброз ограничивается, главным образом, эндокринными островками. Одно из возможных объяснений основывается на том, что звездчатые клетки могут быть подвержены воздействию не только гипергликемией, но и локальной гиперинсулинемии. Для доказательства этой гипотезы изолированные звездчатые клетки стимулировали отдельно глюкозой и инсулином, а также вместе двумя этими стимуляторами [11]. Результаты показали, что гипергликемия и гиперинсулинемия являются двумя решающими митогенными факторами, которые активируют звездчатые клетки и их пролиферацию, вызывая фиброз эндокринных островков. Предлагаются два независимых пути индукции пролиферации звездчатых клеток: путь через внеклеточную сигнально-регулирующую киназу (ERK) и путь через ангиотензин II (Ang II). Таким образом, активация звездчатых клеток и фиброз островков при сахарном диабете 2 типа представляется следующим образом [24]. Высокий уровень глюкозы, инсулина, ангиотензина II и провоспалительных цитокинов вызывают активацию звездчатых клеток. Глюкоза и инсулин независимо повышают активацию ERK и увеличивают экспрессию соединительнотканного фактора роста. Высокая концентрация глюкозы стимулирует продукцию Ang II и экспрессию рецепторов ангиотензина II типа 1, которые связываются с Ang II и активируют трансформирующий фактор роста бета – TGF- β .

В конечном итоге оба пути приводят к продукции TGF- β 1 и экспрессии CTGF (важного посредника активности TGF- β 1). Эти активирующие агенты увеличивают секрецию коллагена I и IV типа, фибронектина и индуцируют пролиферацию звездчатых клеток, вызывая фиброз эндокринных островков [24].

Роль звездчатых клеток в функционировании эндокринных островков

Хорошо известно, что прогрессирующий фиброз, как патогенетический процесс, ведет к нарушению структуры и функции любого органа. Допускается, что дезорганизация островков в результате прогрессирующего фиброза может быть одним из важных механизмов дисфункций и потери массы эндокринных клеток [12]. Для характеристики функциональных взаимоотношений между звездчатыми и эндокринными клетками G. Zang с сотрудниками [26] изучали островки нормальной поджелудочной железы и островки, трансплантированные под почечную капсулу мышей *in vivo*, а также культуру изолированных звездчатых клеток *in vitro*. После нескольких дней в культуре панкреатические звездчатые клетки становились функционально активными, что выражалось в исчезновении витамин А-депонирующих липидных капель и появлении морфологических и иммуногистохимических признаков, характерных для миофибробластоподобных клеток (т.е. активированного фенотипа звездчатых клеток). Установлена продукция или цитокинов, которые оказывали прямое влияние на β -клетки. Отростки островковых звездчатых клеток контактируют с соседними эндокринными клетками, что способствует межклеточному транспорту растворимых медиаторов и цитокинов [17, 28]. В совместной культуре β -клеток и активированных звездчатых клеток показано увеличение апоптоза β -клеток,

уменьшение скорости их пролиферации с параллельным освобождением инсулина как на базальном, так и стимулированном глюкозой уровне. Не исключается, что дополнительные механизмы при прогрессирующем фиброзе островков могут способствовать истощению β -клеток, вовлекая звездчатые клетки в патогенез сахарного диабета 2 типа. Отмечено, что звездчатые клетки, изолированные из фибротических островков крыс, оказывая прямое воздействие на пролиферацию и жизнеспособность островковых β -клеток, повреждают их эндокринные функции [17, 29].

В условиях диабета увеличивается потенциал активации звездчатых клеток, что сопровождается снижением нормального функционирования β -клеток и/или их жизнеспособности не только у экспериментальных животных, но и на поздней стадии развития заболевания у пациентов [15, 21]. Активация сопровождается быстрым ростом и пролиферацией звездчатых клеток, экспансией митохондрий и эндоплазматической сети, значительными метаболическими изменениями в связи с потребностями усиления синтетических и энергетических процессов [23]. Эндоплазматический стресс участвует в фенотипической трансформации покоящихся звездчатых клеток. Усиление белкового синтеза влечет за собой устойчивый митохондриальный стресс. В то же время, метаболическое стресс-индуцируемое репрограммирование звездчатых клеток оказывает влияние на функции соседних эндокринных клеток.

Применение антифибротических средств у крыс в культуре с высоким содержанием глюкозы уменьшало пролиферативную способность, синтез коллагена, экспрессию фибронектина и продукцию провоспалительных цитокинов островковыми звездчатыми клетками [13, 16, 26]. Предполагается, что возвращение активированных звездчатых клеток в их покоящееся состояние и поддержание этого состояния является решающим для сохранения функции панкреатических эндокринных клеток [18]. Данные экспериментальных работ свидетельствуют, что блокирование активации островковых звездчатых клеток способствует восстановлению жизнеспособности островков и может быть эффективно для лечения сахарного диабета 2 типа. Однако необходимы дополнительные наблюдения, чтобы выяснить механизмы, которые поддерживают баланс между звездчатыми клетками и β -клетками островков [5, 30].

Заключение

Звездчатые клетки обнаруживаются не только в экзокринной, но и в эндокринной части поджелудочной железы. Они во многом схожи, но не идентичны. Современные методы исследования, в том числе транскриптомные технологии, позволили установить их генетические, морфологические и фенотипические отличия. При сахарном диабете 2 типа паракринно или аутокринно стимулированные звездчатые клетки островков активируются, что может привести на поздней стадии заболевания к развитию островкового фиброза, уменьшению количества β -клеток и их дисфункции.

Литература (references)

1. Apte M., Pirola R.C., Wilson J.S. Pancreatic stellate cell: physiologic role, role in fibrosis and cancer // *Current Opinion in Gastroenterology*. – 2015. – V.31, N5. – P. 416-423.
2. Apte M.V., Haber P.S., Applegate T.L. et al. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture // *Gut*. – 1998. – V.43. – P. 128-133.
3. Bachem M.G., Schneider E., Groß H. et al. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans // *Gastroenterology*. – 1998. – V.115, N2. – P. 421-432.
4. Bynigeri R.R., Jakkampudi A., Jangala R. Pancreatic stellate cell: Pandora's box for pancreatic disease biology // *World Journal of Gastroenterology*. – 2017. – V.23, N3. – P. 382-405.
5. Carmona R., Barreta S., Munoz-Chapuli R. Retinoids in stellate cells: development, repair and regeneration // *Journal of Developmental Biology*. – 2019. – V.7, N10. – P.1-14.
6. Cho J. H., Kim J. W., Shin J. A. et al. Beta-cell mass in people with type 2 diabetes // *Journal of diabetes investigation*. – 2011. – V.2. – P. 6-17.
7. Donath M.Y., Boni-Schnetzler M., Ellingsgaard H. et al. Islet inflammation impairs the pancreatic beta cell in type 2 diabetes // *Physiology (Bethesda)*. – 2009. – V.24. – P. 325-31.
8. Duester, G. Retinoic acid synthesis and signaling during early organogenesis // *Cell*. – 2008. – V. 134. – P. 921-931.
9. Ferdek P.E., Jakubowska M.A. Biology of pancreatic stellate cells – more than just pancreatic cancer // *Plugers Archiv*. – 2017. – V.469, N9. – P.1039-1050.

10. Homo-Delarche F., Calderari S., Irminger J.C. et al. Islet inflammation and fibrosis in a spontaneous model of type 2 diabetes, the GK rat // *Diabetes*. – 2006. – V.55. – P. 1625-1633.
11. Hong O.K., Lee S.H., Rhee M. et al. Hyperglycemia and hyperinsulinemia have additive effects on activation and proliferation of pancreatic stellate cells: possible explanation of islet-specific fibrosis in type 2 diabetes mellitus // *Journal Cell Biochemistry*. – 2007. – V.101. – P. 665-675.
12. Kim J.W., Ko S.H., Cho J.H. et al. Loss of beta-cells with fibrotic islet destruction in type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Bioscience*. – 2008. – V.13. – P. 6022-6033.
13. Ko S.H., Kwon H.S., Kim S.R., et al. Ramipril treatment suppresses islet fibrosis in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Biochem Biophys Res Commun*. – 2004. – V.316. – P. 114-122.
14. Lawlor N., George J., Bolisetty M., et al. Single-cell transcriptomes identify human islet cell signatures and reveal cell-type-specific expression changes in type 2 diabetes // *Genome Research*. – 2017. – V.27, N2. – P. 208-222.
15. Lee E., Ryu G.R., Ko S.H. et al. Antioxidant treatment may protect pancreatic beta cells through the attenuation of islet fibrosis in an animal model of type 2 diabetes // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2011. – V. 414, N2. – P. 397-402.
16. Lee E., Ryu G.R., Ko Song S.H. et al. A role of pancreatic stellate cells in islet fibrosis and β -cell dysfunction in type 2 diabetes mellitus // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2017. – V.485, N2. – P. 328-334.
17. Li F.F., Chen B.J., Li W. et al. Islet stellate cells isolated from fibrotic islet of Goto-Kakizaki rats affect biological behavior of beta-cell // *Journal of Diabetes Research*. – 2016. – V.9. – P. 1-9.
18. Sarper M., Cortes E., Lieberthal T.J. et al. ATRA modulates mechanical activation of TGF-beta by pancreatic stellate cells // *Scientific Reports*. – 2016. – V.6. – P. 27639.
19. Wang X., Li W., Chen J., et al. A Transcriptional Sequencing Analysis of Islet Stellate Cell and Pancreatic Stellate Cell // *Journal of Diabetes Research*. – 2018. – P. 1-8.
20. Watari N., Hotta H.Y., Mabuchi Y. Morphological studies on a vitamin A-storing cell and its complex with macrophage observed in mouse pancreatic tissues following excess vitamin A administration // *Okajimas Folia Anatomica Japonica*. – 1982. – V.58. – P.837-858.
21. Xu W., Li W., Wang Y., et al. Regenerating islet-derived protein 1 inhibits the activation of islet stellate cells isolated from diabetic mice // *Oncotarget*. – 2015. – V.6, N35. – P. 37054-65.
22. Xue R., Jia K., Wang J. et al. A Rising Star in Pancreatic Diseases: Pancreatic Stellate Cells // *Frontiers in Physiology*. – 2018. – V.9. – P. 754.
23. Xue R., Yang J., Wu J. et al. Coenzyme Q10 inhibits the activation of pancreatic stellate cells through PI3K/AKT/mTOR signaling pathway // *Oncotarget*. – 2017. – V.8. – P. 92300-92311.
24. Yang Y., Kim Ji-Won, Park Heon-Seok et al. Pancreatic stellate cells in the islets as a novel target to preserve the pancreatic β -cell mass and function // *Journal of Diabetes Investigation*. – 2020. – P. 1-13.
25. Yin Z., Hu J.J., Yang L., et al. Single-cell analysis reveals a nestin(+) tendon stem/progenitor cell population with strong tenogenic potentiality // *Sci Advances*. – 2016. – V.2, N11, e1600874.
26. Zang G., Sandberg M., Carlsson P.O., et al. Activated pancreatic stellate cells can impair pancreatic islet function in mice // *Uppsala Journal of Medical Sciences*. – 2015. – V.120, N3. – P. 169-80.
27. Zha M., Li F., Xu W. et al. Isolation and characterization of islet stellate cells in rat // *Islets*. – 2014. – V.6, N2, article e28701.
28. Zha M., Xu W., Jones P. M. et al. Isolation and characterization of human islet stellate cells // *Experimental Cell Research*. – 2016. – V.341. – P. 61-66.
29. Zhou Y., Li W., Zhou J. et al. Lipotoxicity reduces beta cell survival through islet stellate cell activation regulated by lipid metabolism-related molecules // *Experimental Cell Research*. – 2019. – V.380, N1. – P. 1-8.
30. Zhou Y., Zhou J., Sun Bo et al. Vitamin A deficiency causes islet dysfunction by inducing islet stellate cell activation via cellular retinol binding protein 1 // *International Journal of Biological Sciences*. – 2020. – V.16, N6. – P. 947-956.

Информация об авторе

Мозжейко Лариса Андреевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Гродненский государственный медицинский университет» Минздрава Республики Беларусь. E-mail: mozhejko-hist@yandex.ru