

Н.Г. Проданчук, член-кор. АМН Украины, Г.М. Балан, проф.

ТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ КСЕНОБИОТИКОВ НА СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КАК ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ ОБЩЕСОМАТИЧЕСКОЙ И ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И. Медведя, г. Киев

За последнее десятилетие сформировались четкие представления о молекулярно-генетических механизмах клеточной дифференцировки, принципах репаративных процессов и поддержания целостности организма. Сегодня известно, что все зрелые дифференцированные клетки организма имеют ограниченный срок жизни: от нескольких часов (нейтрофилы, тромбоциты и др.) до 3-5 дней (клетки эпителия слизистых оболочек респираторной, пищеварительной, мочеполовой систем) или до нескольких недель, или месяцев (исключение составляют длительноживущие нервные клетки) [1,2,3]. Преобладает мнение, что формирование патологических процессов, особенно канцерогенеза, при воздействии токсических и физических факторов обусловлено преимущественно развитием молекулярно-генетических нарушений не столько в короткоживущих зрелых клетках, сколько в длительноживущих клетках-предшественниках — стволовых клетках (СК) [4,8,11]. Почти 95 % раковых клеток имеют эпителиальное происхождение, тогда как зрелые эпителиальные клетки являются одними из короткоживущих клеток [1,2,125,145]. Все типы СК более уязвимы, уже при воздействии факторов малой интенсивности в них происходят функциональные сдвиги, преждевременное старение, формируется нестабильность хромосом, ДНК и генома [1,45,48], следствием чего являются нарушения репаративных процессов с преобладанием гипорегенераторных

или пролиферативных реакций [2,3,49], а также повышается риск малигнизации [11,13]. Процессы дифференцировки СК генетически детерминированы, обусловлены метаболизмом, экспрессией рецепторов и продукцией цитокинов, взаимодействуют с нервной и эндокринной системами, регулируются иммунными факторами, микроокружением и синхронизированы с факторами внешней среды. В последние годы СК стали предметом пристального внимания исследователей. Выявляемые патологические сдвиги в СК уже при воздействии факторов малой интенсивности обуславливают необходимость их использования как модели при гигиеническом регламентировании и проведении исследований для санитарно-гигиенической экспертизы.

В большинстве органов восполнение погибших клеток происходит с различной скоростью и преимущественно двумя путями. Первый, менее значимый в репаративных процессах, состоит в дубликации, когда при делении из одной зрелой клетки образуется две дочерние идентичные гено- и фенотипически клетки. Например, восполнение пула гепатоцитов после гепатэктомии здоровой печени происходит за счет пролиферации клеток вплоть до полного количественного возмещения потери [1,2,3,7], причем патологически измененные гепатоциты утрачивают способность к делению. Вероятно, в процессе эволюции большинство зрелых дифференцированных клеток утратили способность к делению, поэтому в репаративных

процессах преобладает второй путь, при котором замещение гибнущих зрелых клеток обеспечивается их недифференцированными предшественниками — СК по механизму, аналогичному клеточному генезу [1,3,7]. Например, весь спектр клеток крови восполняется начальным пулом мультипотентных гемопоэтических СК костного мозга. Такие СК способны к самовоспроизведению и формированию клонов различных клеток — предшественников (прародителей, родоначальников), которые претерпевают конечную дифференцировку под влиянием соответствующих медиаторов межклеточного взаимодействия (цитокинов) [1,2,3], факторов роста и других механизмов нейрогуморальной регуляции [7,21,29]. В работе обобщены современные представления об эмбриональных и "взрослых" тканеспецифических СК различных органов, механизмах их функционирования и повреждения, особенно при воздействии токсических и физических факторов малой интенсивности.

Подразделение стволовых клеток и их характеристика

Под термином "стволовые клетки" подразумевают некую популяцию ранних недифференцированных предшественников зрелых дифференцированных, не способных к дальнейшему делению клеток. Иерархия СК представлена мультипотентными "взрослыми" и плюрипотентными эмбриональными СК (рис. 1). Тканеспецифические "взрослые" СК ответственны за регенерацию поврежденных тканей и поддержание тканевого гомеостаза. В настоящее время популяции "взрослых" СК открыты в 20 различных органах и тканях [1,3,7,8], они находятся в так называемых нишах (гнездах, склепах), как правило, расположенных в глубине органов или на дне кишечных борозд, морфологически выявить их трудно из-за малочисленности популяций в ткани и их гетерогенности. Для идентификации "взрослых" СК используется молекулярное фенотипирование, основанное на определении тканеспецифических антигенов, характеризующих фенотип СК [1,2,3,5].

Особое внимание исследователей привлекают эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), которые получают из внутренней клеточной массы эмбрионов (бластоцист) на

преимплантационной стадии (рис. 1) и эмбриональные герменитивные СК, выделенные из эмбриональных гонад (у мыши от 8,5-12,5 — дневно-го, у человека от 5-11 недельного эмбриона), способные к неограниченной пролиферации (делению), дифференцировке почти во все клетки взрослого организма (рис. 2) и в связи с этим называющиеся плюрипотентными ЭСК [1,7,9]. Большие потенции ЭСК к дифференцировке и их огромный пролиферативный потенциал делает эти клетки перспективным источником материала для клеточной терапии, для изучения клеточного старения и механизмов обновления СК, а также для оценки токсических свойств химических веществ и эффективности лекарственных средств. В последние годы ЭСК служат не только моделью для токсикологического и фармакологического тестирования, определения тератогенных эффектов, но и для оценки влияния на репродуктивную функцию ксенобиотиков, лекарственных препаратов, промышленных отходов, ионизирующей радиации и др., а также являются основой для изучения генетических дефектов и их коррекции [3,5,7].

Одним из ключевых свойств ЭСК является синтез теломерызы — рибонуклеопротеина, добавляющего концевые повторы к теломерам хромосом, тем самым поддерживая их длину на постоянном уровне. Большинство соматических СК не экспрессируют теломеразу и вступают в фазу "репликативного старения" после 50-80 делений популяции и таким образом имеют конечную протяжённость пролиферативной жизни в клеточной культуре [7,9]. ЭСК человека сохраняют высокую теломеразную активность и нормальный кариотип даже после более 300 делений, в течение одного года в культуре [7]. ЭСК экспрессируют также специфический транскрипционный фактор Oct — 4, который необходим для поддержания фенотипа недифференцированных ЭСК и играет ведущую роль в детерминировании ранних этапов эмбриогенеза и дифференцировки. ЭСК несут ранние эмбриональные антигены SSEA-4, а основную роль в дифференцировке ЭСК играет их морфогенез: превращение в эмбрионидные тела и их созревание [1,52,53].

Наиболее высокий выход ЭСК (более 30 %) удается достичь при использовании эмбрионов мышей линии 129. Для клеточной терапии широко используются ЭСК человека с нормальным кариотипом: линии с кариотипом XX и линии — XY [7,9]. При выращивании ЭСК используются различные промоторы (индукторы) дифференцировки,

обогащающие популяцию СК тем или другим специфическим типом (табл. 1). Так, использование промотора тяжелой цепи кардиального α -миозина — белка, синтезируемого в кардиомиоцитах, позволяет получить популяции очищенных СК кардиомиоцитов, при трансплантации которых в зону инфаркта миокарда удается восстановить до 60-

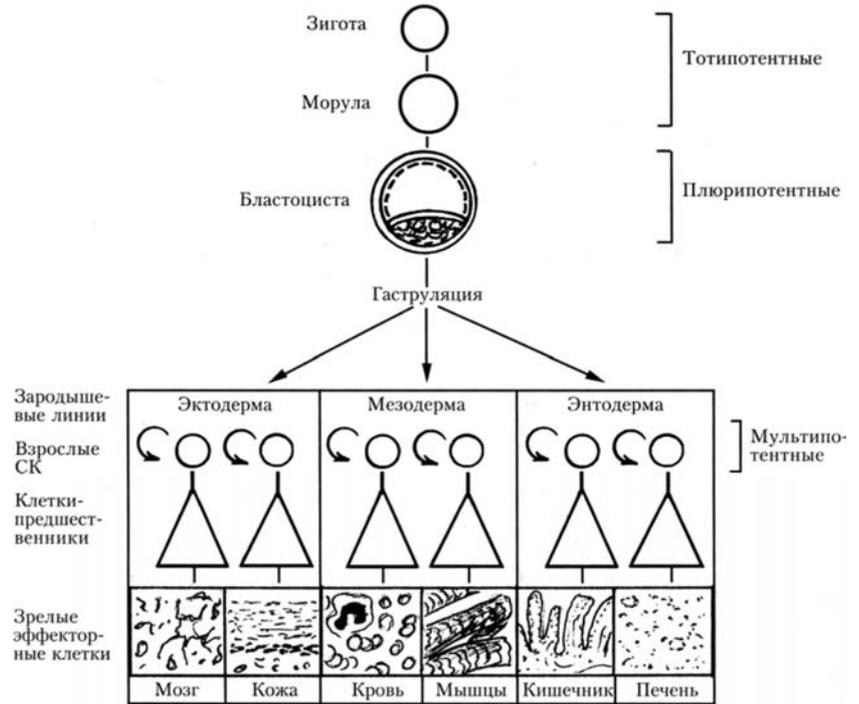


Рис. 1. Стволовые клетки в онтогенезе млекопитающих

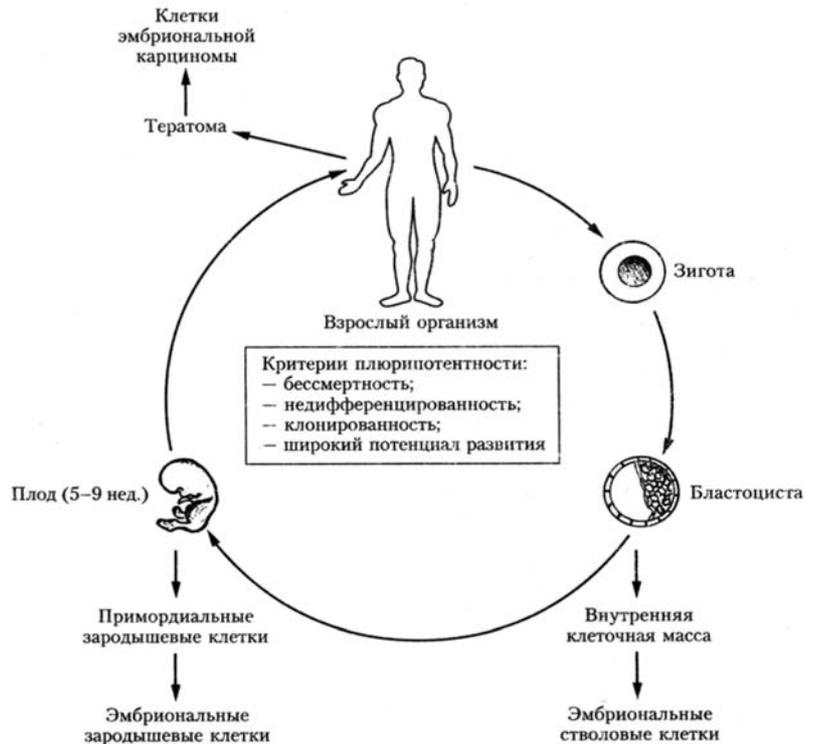


Рис. 2. Источники и происхождение линий плюрипотентных стволовых клеток человека [80]

Таблица 1

Индукторы управляемой дифференцировки ЭСК

Индукторы или морфогены	Индукция клеточных линий
Ретиноевая кислота (1-2 день), β -фактор роста нервов, BDNF, NT3	Нейрональные клетки
BMP-2	Энтероциты, гепатоциты
TGF- β , ретиноевая кислота (2-5 день), DMSO	Мышечные линии, адипоциты
IL-6	Эритроидные линии
IL-3, DMSO 1%	Моноцитарно-миелоидные линии
Кардиальный α -миозин, ретиноевая кислота (5 день), фактор транскрипции GATA-4	Кардиомиоциты, гладко-мышечные клетки сосудов
5-азациитидин	Фибробласты
Фактор роста HGF, ядерный фактор 3 гепатоцитов	Гепатоциты
Стромальные клетки PA6	Нейроны
Стромальные клетки ST2	Остеокласты
Эпидермальный фактор роста	Эпидермис
β -интегрин I	Кератиноциты

80 % поврежденной ткани [6,37]. Разработаны методики для эффективной индукции дифференцировки ЭСК человека в нейрональные, глиальные клетки, инсулинсекретирующие клетки поджелудочной железы, хондроциты и другие [1,7,9], однако процент тканеспецифических ЭСК еще недостаточно высок, а функция клеток замещенной ткани недостаточно избирательна.

ЭСК в момент миграции из эмбрионидных тел чувствительны к воздействию различных индукторов дифференцировки. Одним из таких веществ-индукторов является ретиноевая кислота — производное витамина А. Она выполняет важные регуляторные функции во время эмбрионального развития, однако обладает тератогенными свойствами при приеме во время беременности [7]. Добавление ретиноевой кислоты в культуральную среду ЭСК в разные сроки и в разной концентрации вызывает преимущественную дифференцировку СК в нервные, кардиальные, жировые, гладкие и поперечно полосатые мышечные клетки (табл. 1). В организме человека обнаружена ретиноевая кислота и рецепторы к ней, но ее биологическая роль и степень влияния на пролиферацию СК до конца не изучены. Проведено определение агонистической активности 543 соединений в отношении γ -рецептора ретиноевой кислоты человека [146]. Обнаружено, что 85 соединений,

включая хлорорганические пестициды, димеры стирола, моноалкилфенолы и парамены проявляет активность агонистов, ряд соединений ингибируют активность γ -рецептора ретиноевой кислоты. Наибольшей активирующей активностью обладают моноалкилфенолы, содержащие алкильную группу из 6-9 атомов углерода, расположенную в параположении по отношению к фенольной гидроксильной группе. Считают, что анализ *in vitro* является необходимым этапом при выяснении риска воздействия на организм агонистов рецепторов ретиноевой кислоты.

Существуют и другие индукторы или факторы роста, сдвигающие дифференцировку в определенном направлении, одновременно повышающие число мутаций и вызывающие молекулярно-генетические сдвиги, приводящие к канцерогенезу клеток. К таким индукторам относятся многие ксенобиотики, пестициды, лекарственные средства, вирусы, УФО, ионизирующая радиация и другие факторы [1,3,7]. Более уязвимы к действию факторов малой интенсивности и чувствительны к повреждающему воздействию индукторов дифференцировки эмбриональные СК кроветворной, нервной и почечной тканей [1,3,5,7,52]. Вероятно, с этим связан тот факт, что у детей преобладают злокачественные заболевания крови, нервной системы и почек, которые, вероят-

но, являются следствием молекулярно-генетических изменений еще на уровне дифференцировки ЭСК, что свидетельствует о необходимости планирования процессов зачатия и наиболее бережного отношения к образу жизни в период беременности. Таким образом, основные свойства ЭСК характеризуются следующим: должны быть получены из плюрипотентной популяции; быть стабильно диплоидными и сохранять кариотип *in vitro*; обладать способностью к неограниченному делению и оставаться в эмбриональном состоянии; линии ЭСК должны спонтанно дифференцироваться в клетки — производные трех зародышевых листков: эктодермы, энтодермы и мезодермы; обладать способностью к клонированию (при посеве с низкой плотностью с добавлением ростовых факторов из одной клетки — мышь); обладать способностью синтезировать теломеразу-рибонуклеопротеин, доставляющий концевые повторы к теломерам хромосом, придающий ЭСК способность к бесконечному делению; в ЭСК "выключены" программы специализации клеточных линий, которые включаются при добавлении определенных индукторов дифференцировки [1,2,3,4,5,6,7].

СК соматических тканей человека (региональные или "взрослые" СК) — длительно живущие мультипотентные предшественники, способные на протяжении жизни поддерживать клеточные популяции, фенотипичные для ткани, в которой они располагаются [2,11,52,53]. Эти СК способны долго находиться в покоящемся состоянии, а при стимуляции или получении медиаторного сигнала из микроокружения — к самовоспроизведению с сохранением мультипотентности либо к асимметричному делению, когда одна из дочерних клеток остается стволовой, а другая коммитируется, начинает дифференцироваться и дает начало клону генетически идентичных клеток (табл. 2). Жизнеобеспечение региональных СК и контроль над ними осуществляются специфическим микроокружением (нишей, склепом), открытых в большинстве органов за последнее десятилетие [1,3,52,53]. Дифференцировка региональных СК определяется внешними сигналами, а ее направление — специфичностью сигнала.

Примеры дифференцировки "взрослых" СК (ВСК)

ВСК	Клеточные линии
Гемопоэтические	Эритроциты, Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, моноциты, макрофаги, тромбоциты
Стромальные (мезенхимальные) СК костного мозга	Остеоциты, хондроциты, адипоциты, миоциты линии, фибробласты, кардиомиоциты (?)
Нейральные СК	Нервные клетки (нейроны) и нейронные (астроциты и олигодендроциты)
Эпителиальные СК кишечника	Каемчатые энтероциты, бокаловидные, клетки Пенета, энтероэндокринные
СК кожи (в базальном слое эпидермиса и в основаниях фолликулов волос)	Кератиноциты, эпидермис, меланоциты, секреторные клетки

Исследования последних лет показали, что СК различных органов имеют фенотипические особенности, в частности, внешние антигены поверхностных мембран (A₆, Sca-1, c-kit, CD 34 и др.), позволяющие в определенной степени идентифицировать органоспецифическую принадлежность СК [15,36,37,38]. Так, антиген A₆ является маркером овальных клеток — СК печени [36], антиген Sca-1_(pos) — СК грудной железы [38], агароin 5 — маркер СК альвеолярного эпителия [11], антиген CD 34⁺ присутствует в большинстве гемопоэтических СК, Stro-1 — на мезенхимальных СК [15,16], белок промежуточных филаментов нестин — в цитоплазме нейральных СК. В то же время показано, что эти антигенные маркеры СК не строго органоспецифичны. Например, в ткани легкого антиген Sca-1, являясь маркером бронхо-альвеолярных СК, определяется также в эндотелии легочных артерий, вен и капилляров [39]. Антигены c-kit и CD 34⁺ являются маркерами многих СК легких, в том числе подтипов лейкоцитов и эндотелиальных клеток сосудов [40]. В ткани легких обнаруживаются клетки с CD 45 — CD 31, которые считают предшественниками секреторных клеток Клара [11], а клетки СС 10 являются полипотентными бронхо-альвеолярными СК. Маркер Tie 2 идентифицирует мезенхимальные СК и проангиогенные моноциты, формирующие сосудитые опухоли [41]. Фенотипическим маркером региональных СК также является один из белков множественной лекарственной резистентности — системы ABC — транспортеров.

Одними из наиболее изученных СК являются гемопоэтические СК (ГСК), составляющие весьма малую часть клеток костного мозга — 0,01-3 % [1,144]. Схема гемопоэза у взрослых мышей обобщена по данным [9,10,16,52,80] и представлена на рис. 3, из которой видно, что у клеток крови есть разнородные клетки-предшественники, характеризующиеся различным фенотипом. При иммунофенотипировании ГСК были определены как CD 34⁺-клетки. ГСК способны выходить в сосудистое русло, приобретать CD 34⁺-антиген, а по возвращении в костный мозг — терять антиген CD 34⁺ под воздействием костномозго-

вого микроокружения. При выходе из состояния покоя ГСК отвечают на дифференцировочные сигналы ростовых факторов или цитокинов, хемокинов, функционирующих по паракринному механизму в микроокружении СК. Инфузии и трансплантация клеток костного мозга способствуют репаративным процессам в организме. Выделение человеческих СК уже нашло широкое применение в медицинской практике и имеет большие перспективы.

Такие СК служат источником клеток, которые используются для замещения больных или поврежденных тканей путем клеточной трансплантации. Трансплантация ГСК костного мозга рутинно применяется для лечения лейкемии, а также нередко является единственным эффективным методом терапии при злокачественных новообразованиях и широком спектре других заболеваний, особенно у детей и подростков [1,9,51,144].

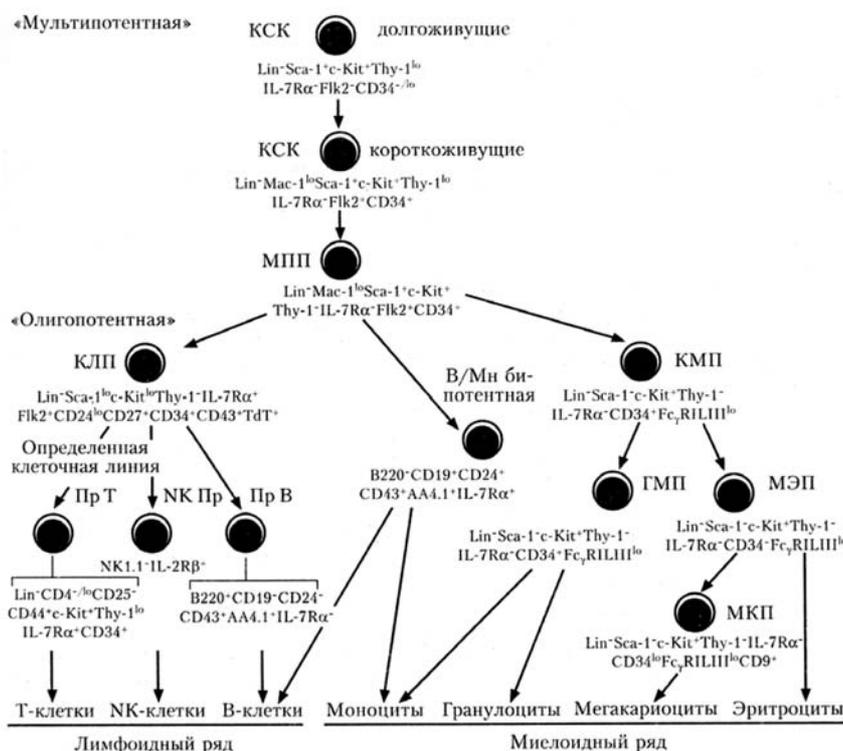


Рис. 3. Схема гемопоэза у взрослых мышей с указанием фенотипа клеток-предшественников

КСК — кроветворная стволовая клетка; МПП — мультипотентный предшественник; КЛП — коммитированный предшественник лимфоцитов; В/Мн — би-потентный предшественник В-лимфоцитов и моноцитов; КМП — коммитированный предшественник миелоидного ряда; ПрТ — предшественник Т-лимфоцитов; ПрНК — предшественник NK-клеток; ПрВ — предшественник В-клеток; ГМП — предшественник гранулоцитов и моноцитов; МЭП - предшественник мегакариоцитов и эритроцитов; МКП — предшественник мегакариоцитов

В последние годы трансплантация ГСК стала широко применяться при злокачественных новообразованиях для предотвращения подавления кроветворения и инфекционно-геморрагических осложнений высокодозной химиотерапии [143,144]. С целью уменьшения токсических эффектов цитостатиков используются ГСК костного мозга, периферической крови и пуповинной крови. По сравнению с костным мозгом и ГСК периферической крови пуповинная кровь содержит ГСК с более высоким потенциалом пролиферации и самообновления. Эффективность применения ГСК из всех трех источников значительно повышают гемопоэтические ростовые факторы: гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), макрофагальный фактор роста, эритропоэтин, тромбopoэтин, фактор, стимулирующий стволовую кроветворную клетку (SCF) и другие цитокины, которые применяются в сочетании с ГСК [143,144]. Клетки-предшественники гемопоэза после их внутривенного введения мигрируют в костный мозг (эффект "хоуминга"), где адгезируются, размножаются, восстанавливаются (эта способность присуща только СК) и дифференцируются. Применение ГСК в сочетании с ростовыми факторами широко используется для восстановления гемопоэза при интоксикациях бензолом, толуолом, ксилолом, инсектицидами, микотоксинами и др. ксенобиотиками [9,144].

В клинических испытаниях показано, что внутривенные инфузии СК костного мозга предотвращают вызываемый эндотоксином отек и воспаление легких [11], уменьшают секрецию провоспалительных цитокинов и стимулируют образование Т-хелперов. Инфузии СК костного мозга уменьшают выраженность эмфиземы легких, вызванной интратрахеальным введением эластазы [35]. Авторы связывают механизм защитного эффекта СК костного мозга не столько с их непосредственным участием в репаративных процессах, сколько с их паракринным эффектом (стимуляция секреции факторов роста и др.).

Костный мозг является также источником мезенхимальных СК, способных дифференцироваться в клетки костной, хрящевой, жировой, мышечной тканей, возможно, в

астроциты, нейроны, кардиомиоциты, мышечные клетки, а также в теноциты и элементы стромы, поддерживающие гемопоэз [1,54]. При культивировании *in vitro* мезенхимальные СК активно пролиферируют, не вступая в дифференцировку [54]. В присутствии некоторых индукторов, химических веществ и лекарств (β -глицерофосфат, аскорбиновая кислота, дексаметазон и др.) мезенхимальные СК дифференцируются в остеобласты, а дексаметазон в сочетании с инсулином индуцирует образование адипоцитов [54]. Мезенхимальные СК экспрессируют иммуносупрессорные хемокины (подавляющие активность зрелых Т-клеток, аутоиммунную агрессию), регулируют воспалительный процесс [54].

В связи с большими трудностями в подборе доноров при трансплантации костного мозга, в последние годы широкое развитие получила идея трансплантации периферических гемопоэтических СК, извлеченных из пуповинной крови [66], так как она является богатым источником СК. Установлено также, что лимфоидные клетки пуповинной крови менее иммунореактивны, поэтому частичная несовместимость по антигенам HLA-системы СК допустима. Кроме того, при этом значительно снижается риск передачи некоторых латентных инфекций, передаваемых трансмиссивным путем. В ряде работ, в том числе и в наших исследованиях, показано, что пуповинная кровь обладает высоким иммуномодулирующим и регенерирующим действием при лечении ряда профессиональных заболеваний, не вызывая побочных эффектов [67,68]. Инфузии свежей пуповинной крови способствовали быстрой регенерации трофических язв, восстановлению периферических нейрососудистых нарушений за счет активного неангиогенеза, лечению анемий, восстановлению эпителия при хронических атрофических и субатрофических бронхитах профессиональной этиологии, урежению или исчезновению приступов бронхиальной астмы. Исследования последних лет показали, что иммуномодулирующий и репаративный эффект инфузаций пуповинной крови (пупочного канатика — cord blood) связан с достаточно высоким содержанием в

ней СК (до 5-10 %) [66,69,70,71]. Авторы отмечают, что пуповинная кровь может стать достойным альтернативным источником гемопоэтических клеток для лечения различных патологических процессов, тяжелых заболеваний крови, включая онкологические. С этой целью в ряде стран создан банк пуповинной крови [66,72,73]. В одной из работ сообщается о 562 реципиентах пуповинной крови при ее успешном использовании в клинике [74]. Показана, сохранность гемопоэтических СК пуповинной крови при длительных сроках хранения (до 12 лет) в жидком азоте, при этом около 95 % кроветворных клеток на протяжении этого времени сохраняют свою способность к пролиферации.

Источником мультипотентных СК является и жировая ткань [140], причем источником достаточно богатым — из 300 мл жира получают от 10 до 20×10^6 клеток, называемых "СК обработанного липоаспирата". В состав жировой ткани входят адипоциты, а также клетки, составляющие стромально-васкулярную фракцию жировой ткани: преадипоциты, эндотелиальные и гладкомышечные клетки кровеносных сосудов, периваскулярные фибробласты и поддерживающая волокнистая коллагеновая строма. В строме обнаружена популяция СК с мультилинейным потенциалом дифференцировки, во многом сходных с мезенхимальными СК костного мозга [140,141]. Они могут стать альтернативным источником мезенхимальных СК для трансплантации, тканевой инженерии и для использования в токсикологическом эксперименте при оценке токсичности химических веществ. В обзоре А.Ю. Петренко и соавт. [141] показано, что мезенхимальные СК жировой ткани в значительно большей степени, чем СК костного мозга, проявляют иммуномодулирующий эффект, демонстрируют практически идентичные морфологические, иммунофенотипические, колониеобразующие свойства и способность к дифференцировке в отдельных направлениях и уже успешно применяются для лечения (болезнь Крона и др.).

Изучение молекулярно-генетических аспектов СК в репродуктологии способствовало достижению больших успехов в изучении предимплантационных зародышевых

клеток, позволивших эффективно не только лечить бесплодие, но диагностировать и корригировать на уровне зародышевых клеток наследственную патологию. М.Б. Аншина [79], анализируя историю развития вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), отмечает, что за последние 20 лет ВРТ превратились не только в способ преодоления бесплодия, благодаря которому родилось около 2 млн. детей, зачатых *in vitro*, но и в базовую технологию для профилактики наследственных и хромосомных болезней, а также клонирования. Автор отмечает, что наиболее впечатляющим достижением ВРТ представляется преимплантационная генетическая диагностика, когда биопсия зародышевых клеток *in vitro* или биопсия полярного тельца позволяет диагностировать гемофилию А, муковисцидоз, миотрофию Дюшена, идиотию Тей-Сакса, дефицит α -анти трипсина и еще 18 наследственных заболеваний. В Чикагском институте репродуктивной генетики группой Ю. Верлинского выполнена уникальная процедура по преимплантационной генетической диагностике, преследующей сразу две цели: отбор эмбриона, с одной стороны, свободного от гена анемии Фанкони, а с другой, — идентичного по генам гистосовместимости с сестрой еще не рожденного ребенка для пересадки ей СК пуповинной крови [79]. Автор отмечает, что эта процедура выполнена, родился здоровый мальчик, и лечение девочки, страдающей анемией Фанкони и находившейся в состоянии предлейкоза, успешно завершено. Такие же процедуры проводятся для диагностики и лечения болезни Альцгеймера в семьях, где она начинается в 35–40 лет.

Особый интерес среди СК представляют СК респираторной системы и механизмы репарации бронхов и легких в связи с чрезвычайно большой поверхностью гетерогенного бронхоальвеолярного эпителия (составляющей 70–100 м²), чрезвычайно уязвимой при ингаляционном воздействии повреждающих химических и инфекционных агентов. Легкие млекопитающих характеризуются уникальной клеточной организацией с оригинальными репаративными механизмами [11,21]. Эпителиальные, эндотели-

альные и интерстициальные клетки легких сталкиваются с повреждающим воздействием микроорганизмов, токсических веществ, поступающих в легкие ингаляционным или гематогенным путем [22,23,24,25,26]. Проксимальные отделы воздухоносных путей (трахея и главные бронхи) представлены цилиндрическим мерцательным эпителием, секреторными, базальными клетками и подслизистым железистым эпителием [11,21]. Более периферические отделы воздухоносных путей не содержат базальных клеток, а их поверхность представлена мерцательным эпителием и большим соотношением секреторных клеток Клара. Альвеолярная поверхность выстлана плоскоклеточным эпителием (клетки I типа) и кубовидными сурфактантэкспрессирующими клетками II типа [11,12,13,18]. Использование различных клеточных маркеров (тимидин, бромдеоксиридин или ретровирусные агенты) позволило показать, что в репаративных процессах слизистой оболочки проксимальных отделов воздухоносных путей основная роль принадлежит клеткам базального эпителия, секреторным клеткам Клара и подслизистым железистым клеткам [11,14,21]. Отмечено, что в репаративных процессах имеет значение вид повреждения, который активирует определенные клетки-предшественники. При этом наблюдается нарастание числа СК как следствие их способности репультировать в области повреждений, образовавшихся при воздействии минеральных волокон, озона и других химических веществ, а также при механическом или ферментативном повреждении [11,14,21]. Секреторные клетки функционируют как главный прародитель эпителия после повреждения его окисью азота или озоном [13,17,22]. При повреждении трахеального и бронхиального эпителия нафталином в качестве СК (прародителя) выступают клетки базального эпителия [11,21,25], цилиндрические клетки [11,18] или популяция тех и других клеток [20,26]. Повреждающие химические и биологические агенты высоких уровней вызывают гибель СК, а при хроническом воздействии низких уровней — функциональные или молекулярно-генетические нарушения, следствием которых мо-

жет быть развитие гипорегенераторного, пролиферативного процесса или канцерогенеза [11,21,26,27].

Исследованиями последних лет показано, что в репаративных процессах в легочной ткани участвуют классические и неклассические иерархии СК: гемопоэтические СК как предшественники эпителиальных клеток [21,30,32], бронхоальвеолярные СК и мультипотентные длительноживущие СК, обитающие в специализированных анатомических нишах легочной ткани [11,26,27,33]. Причем гемопоэтические СК воссоздают лишь до 20 % альвеолярных эпителиальных клеток II типа и до 4 % бронхиального эпителия [30]. Хотя другие авторы считают, что СК костного мозга лишь активируют или запускают потенциал бронхоальвеолярных СК [11,26,34], выполняя паракринную иммуномодуляторную функцию. Показано, что есть вариант клеток Клара, участвующих в репарации бронхиол, содержащих цитохром P-450, его активируют различные ксенобиотики, обуславливающие запуск дифференцировки предшественников клеток Клара и других эпителиальных клеток [12,14,18,26]. Клетки Клара обитают в пределах анатомических ниш и активируются медиаторами микроокружения после определенных видов повреждения воздухоносных путей [21,27]. Использование клеточных маркеров позволило показать, что при повреждениях легких ксенобиотиками, СК, расположенные в нишах, воссоздают как секреторный, так и мерцательный эпителий в ближайших воздухоносных путях [19,28]. В альвеолах кубовидные клетки II типа функционируют как гетерогенные предшественники: воссоздают альвеолярный эпителий и запускают дифференцировку плоского эпителия [11,21], в связи с чем авторы называют их бронхоальвеолярными СК (BASCS). Исследования последних лет показывают, что из этих СК развиваются некоторые виды рака легкого при воздействии химических веществ, вирусов, радиации или специальных индукторов дифференцировки [11,21,33], вызывающих точковые мутации, нестабильность ДНК и генома в СК. Молекулярно-генетические изменения в СК под влиянием химических веществ и других повреждений лежат в основе

нарушений их дифференцировки и последующей метаплазии [41].

В ремоделировании и неоваскуляризации адвентициальной легочной артерии, индуцированной гипоксией, участвуют СК CD 133, причем длительная гипоксия вызывает мутации в СК, нарушения их дифференцировки и формирование метаплазий. Молекулярное фенотипирование позволяет идентифицировать и выявить вклад определенных СК в формировании очага фиброза или злокачественной опухоли [42,43]. Например, эндотелиальные СК CD 133 содействуют васкуляризации опухоли при раке легкого [44]. Маркеры бронхоальвеолярных СК отождествляют в нормальном легком и раке легкого после воздействия химических канцерогенов [26,33]. Отмечена генная экспрессия в СК респираторного эпителия при воздействии повреждающих агентов [45]. Нарушения дифференцировки эпителиальных СК и их пролиферацию при воздействии повреждающих факторов и индукторов рассматривают как риск развития эмфиземы, фиброза или рака легких [24,46,47,48,49]. В то же время инфузии СК костного мозга способствуют регрессу патологических химически индуцированных процессов в легких (фиброза, гипертензии в легочной артерии, обструктивной болезни) [24,26,50].

Особый интерес исследователей привлекают нейральные СК как в плане изучения генетических изменений и риска развития различных нейродегенеративных заболеваний, так и в плане поиска возможности клонирования нейральных СК и разработки методологии их трансплантации человеку для коррекции как наследственных, так и приобретенных нейродегенеративных процессов вследствие воздействия химических, физических и биологических факторов. До недавнего времени утрата нейронов в течение постнатального онтогенеза считалась невозможной. В последние годы показано, что постнатальный нейрогенез *in vivo* может осуществляться региональными мультипотентными СК, локализованными в зубчатом ядре гиппокампа, обонятельной луковице и субэпендимальной зоне латеральных желудочков [1,2]. Нейральные СК дают начало нейронам и клеткам глии (олигоден-

дроцитам и астроцитам). В культуре *in vitro* нейральные СК человека пролиферируют в присутствии фактора роста фибробластов 2 и эпидермального ростового фактора, образуя характерные морфологические структуры (нейросферы), и прекращают деление через 250-300 дней (40 популяционных делений). При высеве в среду со специфическими индукторами нейральные СК дифференцируются по нейрональному и глиальному типам. При трансплантации в различные отделы головного мозга нейральные СК сохраняют жизнеспособность, дифференцируются в нейроны и глию. Сообщается об успешных попытках клеточной терапии с использованием как модифицированных специальных индукторами эмбриональных СК, так и нейральных СК при лечении больных с инсультом, болезнями Паркинсона, Альцгеймера, эпилепсии и др. [1,2].

В процессах репарации и пролиферации в печени доказано участие трех типов СК печени: гематопоэтических и мезенхимальных СК костного мозга и овальных клеток печени [3,121,122]. Клетки со свойствами СК в пораженной химическими или физическими факторами печени появляются в большом количестве при подавлении пролиферации зрелых гепатоцитов. Под влиянием ростового фактора гепатоцитов и эпидермального ростового фактора в системе *in vitro* гепатоциты дедифференцируются, многократно дуплицируются, претерпевают клональную экспансию и редифференцируются с образованием зрелых гепатоцитов и даже структур, подобных желчным протокам. Таким образом, зрелые гепатоциты нельзя рассматривать как окончательно дифференцированные клетки. После частичной гепатэктомии здоровой печени они претерпевают митогенез, осуществляют дифференцированные функции и способствуют полному восстановлению прежних размеров печени. В экспериментальных моделях на животных доказано также существование бипотентных СК, предшественников гепатоцитов, участвующих в регенерации печени [3]. Это овальные СК, представленные в канальцах Геринга, у человека они подобны малым холангиоцитам. На модели перипортального некроза, вызванного

токсическим действием аллилового спирта, выявлена пролиферация "нуль-клеток", не несущих маркеры гепатоцитов и холангиоцитов. Установлено, что данная популяция СК происходит из мезенхимальных СК костного мозга [122,123].

Репаративные процессы в коже и ассоциированных с ней структурах (волосяных фолликулах, сальных и потовых железах, ногтевых пластинках) обеспечиваются эпидермальными СК, представленными в базальном слое эпидермиса и в волосяных фолликулах. В культуре кератиноцитов *in vitro* единичные клетки-предшественники формируют колонии, различающиеся по способности к самообновлению и дифференцировочному потенциалу (голо-, меро- и параклоны), причем только голоклоны являются истинными эпидермальными СК с поверхностным фенотипическим маркером p 63. Таким образом, репаративные процессы в организме обеспечиваются различными типами СК, прародителями которых являются как гемопоэтические и мезенхимальные СК костного мозга, так и СК определенных органов и тканей.

Механизмы формирования адаптивных реакций и повреждений в СК (роль интерлейкинов, онкогенов, супрессорных генов, стабилизаторов генома, иммунной системы и микроокружения СК). Действие повреждающих агентов на СК может быть причиной как их гибели, так и запуска каскада адаптивных реакций, увеличивающих жизнеспособность данного клона клеток [55,57]. Изучение механизмов формирования молекулярно-генетических нарушений показало, что токсическое воздействие вызывает в СК экспрессию гена множественной лекарственной устойчивости (MDR), который кодирует р-гликопротеин (р 170) и металлотioneин, функционирующие как мембранная помпа для выброса из клетки токсических соединений [55,56]. Р-гликопротеин и металлотioneин связаны с функцией детоксикации и обеспечивают "пассивную" защиту клетки и ее адаптивный ответ на токсические внешние воздействия. В соответствии с этим ген MDR экспрессируется у человека в тканях, выполняющих функции детоксикации: в эпителии толстого и тонкого кишечника, эпителии почечных канальцев и желчевыводя-

щих протоколов, в гепатоцитах и эпителии протоков поджелудочной железы, в эпителии потовых и сальных желез [55,56]. Проследивается тесная связь гена MDR и гена белка p 53, основной функцией которого является контроль за клеточной пролиферацией и инициация программы апоптоза в ответ на генотоксические воздействия [55,56,59,60]. У здоровых лиц наблюдается определенная стабильность темпов обновления клеточной популяции и "старческий" апоптоз достаточен для поддержания клеточного гомеостаза. При этом в клетках уровень p 53 очень низкий и наблюдается негативная иммуногистохимическая реакция на белок p 53 [55,56,57,58]. При хроническом воспалении пролиферативная активность эпителия возрастает на 65-70 % [58], но повышение уровня синтеза ДНК не сопровождается активизацией элиминации эпителиоцитов, характеризуется угнетением функции СК и развитием гипорегенераторного синдрома. Наряду с этим хронический воспалительный процесс блокирует антиапоптозные гены семейства bcl-2 или их белковые продукты (bcl-2, bcl-X_L, mcl-1, bag-1, brag-1 и др.), пролонгируя жизненный цикл пораженных взрослых клеток, активизирует жизненные процессы и при этом повышает риск малигнизации [57,58,60]. Мутации гена p 53 в разных позициях индуцируют суперэкспрессию гена MDR и синтез р-гликопротеина 170 и металлотеина, обуславливающих устойчивость клеток не только к воздействию токсических веществ, но и к воздействию факторов некроза опухолей, к действию ультрафиолетового и γ -излучения [56,57,60]. Кроме того, эти протеины повышают резистентность клеток к различным цитотоксическим субстанциям иммунокомпетентных клеток — высокомолекулярных пептидов, свободных радикалов [60]. Если обычный ген p 53 и экспрессируемый им проапоптозный белок p 53 подавляют пролиферативные процессы и опухолевый рост, то мутантные варианты белка p 53 стимулируют их, способствуют формированию фиброза, росту и метастазированию опухолей.

Многие токсические вещества индуцируют каспазависимый апоптоз как в зрелых, так и в СК — запрограммированный каскад внут-

риклеточных событий, заканчивающийся расщеплением ДНК и смертью клетки, на начальном этапе которого принимаю участие цистеинзависимые протеазы (каспазы) [56,57,59]. К настоящему времени у человека выявлено более 10 типов различных каспаз [56]. Р-гликопротеин и металлотеин модулируют функции ряда каспаз таким образом, что подавляется процесс фрагментации ДНК и в итоге снижается гибель клеток в результате апоптоза.

Одной из важных стратегий контроля над дифференцировкой СК является экспрессия одного из самых полифункциональных и плейотропных цитокинов — трансформирующего фактора роста бета (ТФР- β) [62,63,64]. Он подавляет пролиферацию как СК, так и иммунных клеток, особенно цитотоксических Т-лимфоцитов и лимфокин-активированных киллеров [56,57]. При мутации гена ТФР- β в СК и суперэкспрессии фактора роста ТФР- β под воздействием токсических и других повреждающих агентов процесс дифференцировки, пролиферативный и опухолевый рост выходят из-под контроля иммунной системы организма [57,60]. ТФР- β — член "суперсемейства" пептидов и регуляторных молекул, в которое входят активины, ингибины, морфогенетические протеины кости, ингибирующая субстанция Меллера и другие соединения, регулирующие процесс дифференцировки клеток [61]. Этот фактор является ростовым для менее дифференцированных клеток — СК и наиболее злокачественных клонов низкодифференцированных опухолевых клеток, резко увеличивающий их пролиферацию при избыточной экспрессии, в то же время рост нормальных дифференцированных клеток и высокодифференцированных опухолевых он может подавлять. При действии токсических веществ и онкогенов (ras-онкогенов и др.) вектор действия ТФР- β меняется с ингибирующего на стимулирующий [61], в результате чего в трансформированных клетках усиливается пролиферативный потенциал. Этому способствует ангиогенная активность ТФР- β . Аналогичным действием обладает еще один эндогенный ростовой фактор, регулирующий процессы дифференцировки и роста клеток — фактор рос-

та фибробластов (ФРФ), при мутациях гена которого резко возрастает пролиферативная активность низкодифференцированных клеток и их малигнизация [62]. Для ФРФ характерны митогенный, стромогенный и ангиогенный эффекты. Степень малигнизации клеток при действии химических канцерогенов прямо пропорциональна степени экспрессии мутантного гена ФРФ, причем экспрессия ФРФ обеспечивает большую автономию опухолевых клеток, усиливает их пролиферативную активность и приживляемость. ФРФ индуцирует экспрессию фермента циклооксигеназы 2 (ЦОГ-2), катализирующей синтез простагландинов. ЦОГ-2 считают одной из эндогенных субстанций, ассоциированных с прогрессирующей малигнизацией клеток [57,62,65]. Простагландины связываются с ядерным хроматином и могут быть причиной нарушения синтеза ДНК, что послужило поводом считать их канцерогенами. Повышенная экспрессия простагландинов наблюдается при язвенных колитах, в злокачественных клетках эпителия кишечника, малигнизированных фибробластах [62]. ЦОГ-2 кодируется геном, относящимся к генам, так называемого, "раннего ответа". Эти гены экспрессируются непосредственно после воздействия на СК и низкодифференцированные клетки различных токсических соединений, ростовых факторов, цитокинов и опухолевых промоторов (c-fos, c-jun, ген ТФР- β и др.). Увеличение экспрессии ЦОГ-2 делает клетку более устойчивой к сигналам апоптоза, в том числе путем задержки в фазе G₁ клеточного цикла [62,63,65]. Кроме того, цитотоксические эффекты ЦОГ-2 связывают с прооксидантным эффектом [65].

К генам "раннего ответа" относят также ген, кодирующий фактор некроза опухоли ФНО- α . ФНО- α является ярко выраженным антагонистом ТФР- β и обладает сильным противовоспалительным, катаболическим действием, индуцирует в опухолевых клетках апоптоз [64]. Но в то же время ФНО- α обладает бифункциональным действием на многие биологические процессы и может побуждать клетки, в том числе и СК, либо к дифференцировке, либо к гибели [57,64]. Токсическое воздействие и другие стрессорные воздей-

ствия вызывают избыточную экспрессию гена ФНО- α и его мутации, что вызывает точковые мутации в ДНК СК, их малигнизацию или избыточную пролиферацию и формирование фиброза, так как ФНО- α одновременно активно стимулирует синтез коллагена II типа, фибриногена и обладает ангиогенным эффектом [64]. ФНО- α увеличивает подвижность клеток, "разрыхляя" межклеточный матрикс, и ослабляет связи клеток с ним, что обуславливает снижение энергетического потенциала клеток, угнетение реакции клеток на медиаторы микроокружения, вызывает нарушение процессов репарации, повышает риск малигнизации и метастазирования.

Показано, что большую роль в регуляции репаративных процессов играют макрофаги. Если раньше они рассматривались исключительно как фагоцитирующие клетки, то сейчас доказано, что функции этой клетки чрезвычайно разнообразны. Она продуцирует свыше 100 биологически активных соединений: от простейших молекул — супероксидного и гидроксильного ионов до высокомолекулярных пептидов с деструктивным (цитотоксическим) или продуктивным (ростостимулирующим) потенциалом [75,76,77,78]. Наиболее широким спектром биологической активности обладают продуцируемые макрофагами интерлейкины (ИЛ): ИЛ-1, -6, -8, -10, -12, -13, а также ТФР- β , интерферон, ФНО- α , фактор роста фибробластов, эндотелия, пластинчатый фактор роста, факторы ангиогенеза и др. Основная эволюционно запрограммированная роль этих продуцентов макрофагов — обеспечение устранения дефектов тканей и поддержание внутритканевого гомеостаза [77,78]. Поэтому прежде всего их действие направлено на регуляцию функции СК, процессов репарации и регенерации тканей. Причем все ростовые факторы полифункциональны, их конечный эффект на СК зависит от типа последних, стадии дифференцировки, состояния внеклеточного матрикса, концентрации других цитокинов и пр. [52,55,56,57]. Избыток ростовых факторов не является безразличным для организма, так как может приводить к гиперпролиферативным процессам: склерозированию кожи,

карнификации легкого, циррозу печени, гломерулонефритам и др. [58,78]. При лечении этих заболеваний уже используются антитела к ТФР- β и другим ростовым факторам. Таким образом, рассмотренные выше эндогенные ростовые факторы так или иначе влияют на дифференцировку СК, могут ее угнетать и способствовать развитию гипорегенераторных процессов, но при воздействии повреждающих агентов их избыточная экспрессия или мутации способствуют альтернативным или пролиферативным процессам и могут играть важную роль в механизмах многоступенчатого канцерогенеза.

Одним из важных механизмов регуляции самообновления клеток является контрольный пункт (точка) теломеры, (рис. 4), определяющие количество делений или апоптоз СК [11,21,80]. Даже ограниченное количество дополнительных делений и самообновления СК значительно увеличивает продукцию клеток, в результате СК различных фенотипов могут производить неодинаковое количество клеток. Это показано в клональных пролиферативных нарушениях, таких как пароксизмальная ночная гемоглобинурия и хронический миелолейкоз (chronic myelocytic leucemia). Генетическая нестабильность, стимулируемая потерей функциональных теломер, способствует селекции клона с дополнительными генетическими нарушениями, что повышает риск злокачественного роста [21,80]. Не все СК в различных органах, особенно в гемопозитической системе, запрограммированы на столкновение с контрольным пунктом теломеры. Особо интересным исключением являются В-клетки, популяция которых характеризуется гетерогенностью в длине теломер, многие клетки характеризуются высокой активностью теломеразы для удлинения теломер. Вероятно, В-клетки проходят большое количество делений, необходимых для эффективной селекции и "родственного созревания" антител, при этом им удается миновать контрольный пункт теломер. Предполагается, что В-клетки в результате этого больше подвергаются риску малигнизации, что объясняет более высокую частоту В-, чем Т-лейкозов в человеческой популяции, особенно у детей.

Активация контрольного пункта теломеры нередко является результатом потери теломерической ДНК при репликации и оксидативном ее повреждении при воздействии токсических и других факторов (рис. 4). В ответ на повреждение может активироваться теломераза, удлиняться теломеры и, как следствие — продолжение пролиферации с нарушением репарации с высоким риском озлокачествления клеток. Высокой теломеразной активностью обладают клетки злокачественных опухолей, способные бесконечно делиться. Укорочение теломеры эффективно ограничивает пролиферативную потенцию таких клеток и способствует апоптозу [11,21,80]. Автотрофы считают, что контрольный пункт теломеры развился как супрессорный механизм канцерогенеза у долгоживущих видов. Повышенная активность контрольного пункта теломер при оксидативном токсическом повреждении может способствовать более раннему укорочению теломер, преждевременному апоптозу и развитию гипорегенераторного синдрома, включая истощение СК при апластической анемии. В свою очередь, обход контрольного пункта теломер с экспрессией высокого уровня теломеразы способствует инактивации нижележащих сигнальных событий (снижению или утрате функции супрессорного белка p 53, мутации гена p 53), что повышает чувствительность этих клеток к действию канцерогенов и развитию опухоли [55,56,57]. Потеря функции p 53 также инактивирует контрольный пункт теломеры, приводит к хромосомным слияниям и разрывам, что обуславливает генетическую нестабильность и увеличивает шанс злокачественного преобразования клеток и формирования опухоли. К сожалению, до настоящего времени не выяснен механизм абсолютного контроля над дифференцировкой СК. Обсуждается возможность экспрессии в клетке "гена самоубийства" под контролем, например, генов отдельных циклинов таким образом, что если клетка вступает в цикл неконтролируемого деления, она удаляется [76,77,80].

Изучение механизмов воспроизводства СК грудной железы человека на оригинальной экспериментальной модели с использованием культуры СК грудной железы D 920

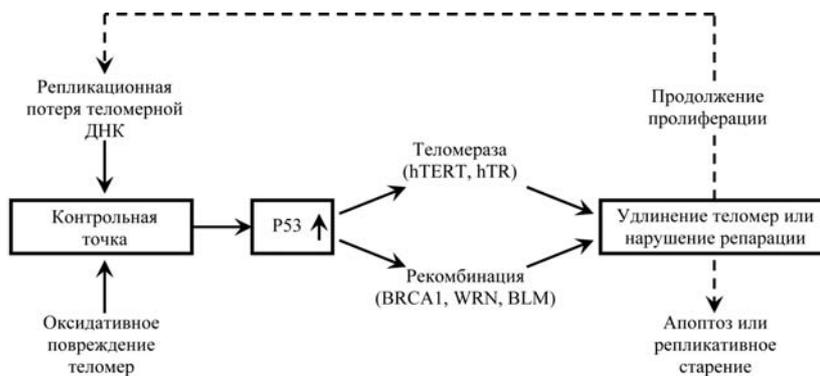


Рис. 4. Контрольная точка теломер [80]

показало, что процесс их дифференцировки и приобретения определенного фенотипа обеспечивается продуктами взаимодействия компонентов микроокружения. С помощью методов фенотипирования с включением иммунофлюоресцентных и радиологических меток авторы идентифицировали и определили функцию ряда протеинов, которые "обслуживают" СК в нишах, расположенных в глубине железы в пределах терминальных протоков. Данные протеины во взаимодействии с сигналами иммунокомпетентных клеток и нейро-гормональных медиаторов "дирижируют" баланс гетерогенных пулов СК грудной железы в нише, определяют их локализацию, фенотип, обновление и индуцируют функцию СК-прародителей люминального эпителия (фенотип LEPs; K14 / K 19 / K8), миоэпителиальных клеток (фенотип MEPs; K14 / K19 / K8) и при необходимости — клеток, обеспечивающих лактационный процесс [103]. Авторы проанализировали 192 варианта микроокружения, повторяя каждый 12 раз (2304 комбинации). В зависимости от компонентов микроокружения прародители Д 920 формировали колонии с преимущественным содержанием люминальных эпителиальных клеток (25-57 %) или миоэпителиальных клеток (40-74 %). Отмечено, что содержание трех основных микроэкологических компонентов (протеинов) определяют судьбу СК грудной железы: 1-ый — ламинин-1, мембранный протеин, который является критическим сигнализирующим лигандом для функциональной дифференцировки — обеспечивает неподвижность, пресекает прирост и предотвращает апоптоз СК; 2-ой — Jagged-1, лиганд, обеспечивающий

накопление СК (K14 / K19) в комбинации с ламинин-1; 3-ий — P-cadherin — обеспечивает дифференцировку миоэпителиальных клеток (фенотип K14⁺ / K19 / K и E-cadherin — регулирующий люминальный слой СК (K15⁺). E-cadherin выполняет роль замедлителя в пределах ниши, предотвращающего преждевременную спецификацию СК люминального эпителия. Показано, что взаимодействие протеинов микроокружения обеспечивает контроль СК ниши вплоть до 30 поколений дочерних клеток. Направление дифференцировки определяется комбинацией и интеграцией регулирующих протеинов. Таким образом, одна СК может дать начало полному органу через иерархические серии дифференцировки под контролем протеинов микроокружения.

Удалось выявить специфический маркер СК раковой опухоли грудной железы [118]. Показано, что СК составляют менее 5 % всех клеток опухоли, но они являются ключевыми в прогрессировании рака. Исследование 577 образцов ткани раковой опухоли женщин позволило выявить специфическую форму фермента альдегиддегидрогеназы (ALDH1), характерную только для СК опухоли. Опухоли формировались только из ALDH1 — позитивных СК. Лица с высокой активностью ALDH1 в СК реже выживали и в 1,76 раза выше у них была вероятность метастазирования. Авторы отмечают, что высокая активность этого фермента в СК отражает большой потенциал их воспроизводства, а уровень активности ALDH1 обладает диагностической и прогностической значимостью.

Среди основных маркеров высокого риска рака грудной железы выделен маркер мутации гена BRCA1

(у лиц с мутацией этого гена рак грудной железы развивается в 85 % случаев, тогда как в общей популяции — не чаще 16 %) [113], причем форма рака у этих лиц более агрессивная. Установлено, что ген BRCA1 регулирует образование рецепторов к эстрогенам на СК. При мутации этого гена резко уменьшается количество рецепторов к эстрогенам на мембранах СК и повышается риск малигнизации.

Нарушения дифференцировки СК грудной железы и их клоногенной емкости, появление в них различных внутриклеточных повреждений (нестабильность ДНК, митохондриальные нарушения, энергодефицит и др.) под влиянием химических, физических и биологических факторов преимущественно малой интенсивности значительно повышают риск малигнизации, так как более высокие дозы вызывают преждевременный апоптоз СК [111,112]. Предлагается использовать культуру СК грудной железы при скрининге митохондриальной токсичности химических и лекарственных веществ [112]. В то же время инициация преждевременного старения СК грудной железы при воздействии биологических и химических факторов в определенной степени уменьшает риск онкогенеза [111].

Изучение механизмов функционирования и судьбы гематопоэтических СК в искусственных нишах грудной железы [116] также позволило уточнить характеристику, роль и функции растворимых регулирующих протеинов микроокружения. Среди них авторы выделяют протеин Wnt3a — стимулирующий воспроизводство СК; IL-11-цитокин, стимулирующий экспансию СК; факторы роста FGF-1 и TPO — регулирующие функции СК; IGF-2 — стимулирующий клонообразование; Ang-1 — регулирующий клеточный цикл деления; Shh — стимулирующий пролиферацию СК. Наряду с этим авторы обобщили характеристики регуляторных протеинов, осуществляющих трансмембранное воздействие на нишу со СК: Jagged-1, N-Cadherin, VE-Cadherin, ICAM-1, VCAM-1 и P-Selectin. Данные протеины также регулируют воспроизводство, клонирование, созревание, выживание, локализацию и пролиферацию гематопоэтических [116] и других СК [103]. Установле-

но, что гетерогенная совокупность СК ниши обладает саморегулирующим потенциалом в механизме воспроизводства [115]. При этом клетки с периферии ниши препятствуют колонизации СК с единичной мутацией гена p 53 даже без дополнительных мутаций. Установлено, что начальная мутация в СК безвредна, так как формирование канцерогенеза требует многократных мутаций. Адаптивные реакции ниши неспособны препятствовать воспроизводству клона СК с повторными мутациями, инициирующими пролиферативное преимущество. Клоновое расширение мутантных СК требует особых физиологических условий, вызванных химическим или биологическим фактором и характеризующихся стимулированием факторов роста, нарастанием окислительных реакций, воспаления, снижением иммунного надзора и активацией апоптоза во фланговых защитных СК ниши [111,112,115]. В то же время появились данные, свидетельствующие о возможности мутантных СК клеток избегать контроля микроокружения ниши [115]. На модели кератиноцитов показано, что воздействие канцерогенов позволяет p 53-мутантным кератиноцитам уходить от контроля ниши, колонизироваться и подвергаться малигнизации без дополнительных мутаций.

СК всех тканей более чувствительны к действию канцерогенов, чем высокодифференцированные клетки [21,80,81,82]. Получены доказательства достаточности избирательного повреждения ДНК для инициации канцерогенеза [81,82]. В различных тканях накапливаются СК, подвергшиеся случайным воздействиям экзо- или эндоканцерогенов и прошедшие более одной стадии на пути к ее полной малигнизации [88]. Канцероген, эффект которого усиливается пропорционально возрасту в момент воздействия, действует на уже частично трансформированные в различной степени клетки, в том числе долгоживущие СК [82]. Воздействие канцерогенов на СК может не только увеличивать риск развития опухолей в последующих поколениях, но и значительно усиливать чувствительность к опухолевым промоторам, которые сами по себе могут не оказывать повреждающего воздей-

ствия [80,81]. Сейчас уже не вызывает сомнений, что ключевыми моментами туморогенеза являются активизирующие мутации в онкогенах и инактивирующие повреждения в супрессорных генах [2,80,82,88]. Эти процессы нарушают экспрессию и функции белков, участвующих в контроле клеточной пролиферации, дифференцировки и гибели клеток. Модельные эксперименты на культурах СК позволили выявить сотни потенциальных онкогенов и десятки супрессорных генов [2,80,88]. Под онкогенами принято называть гены, проявляющие активность в эксперименте и активизирующиеся в процессе туморогенеза. В свою очередь, супрессорные гены и стабилизаторы генома препятствуют малигнизации клеток и пролиферации злокачественного фенотипа в лабораторных условиях и инактивируются в опухолях [83]. В неизмененных СК все эти генетические элементы участвуют в процессах дифференцировки, апоптоза, сдерживают пролиферацию поврежденных клеток и т.д. [82,83]. Активация генов чаще всего определяется в увеличении количества их продуктов и называется суперэкспрессией [32]. Во многих озлокачественных клетках наблюдается увеличение копии генов (амплификация) или их транслокация под контролем сильного промотора. Суперэкспрессия генов происходит не только при крупных повреждениях их структуры, но и при нарушении регуляторных процессов и клеточного микроокружения [83]. В других случаях уровень экспрессии супрессорных генов не изменен, однако их белковый продукт оказывается функционально неполноценным из-за нуклеотидных замен [82]. Авторы отмечают, что многообразие патогенеза злокачественной трансформации СК и клеток их фенотипа на разных стадиях дифференцировки не ограничено мутациями онкогенов и супрессорных генов. Нарушения многих других генетических элементов также могут играть существенную роль в этом процессе. Для большинства малигнизированных клеток отмечены одни и те же молекулярно-генетические аномалии: амплификации онкогенов семейств ERBB и MYC, точечные мутации в "горячих" кодонах онкогенов семейства RAS, делеции супрессорных ге-

нов и нуклеотидные замены в супрессорном гене p 53. Наиболее опасной для клетки при действии химических веществ и других повреждающих агентов является комбинация активации онкогенов и инактивации супрессорных генов, а также мутации в генах ферментов, обеспечивающих стабильность генома (ДНК-полимераз и др.), при этом автономизация пролиферативного сигнала сочетается с поломками механизмов, осуществляющих негативный контроль клеточного цикла. Это сочетание особенно пагубно действует на низкодифференцированные долгоживущие СК. Их бесконтрольная пролиферация с суперэкспрессией генов теломера обеспечивает начало трансформации клеток и роста клона наиболее злокачественных низкодифференцированных, быстро метастазирующих опухолей [80,81,82]. Раковые клетки могут содержать до 200 000 мутаций, тогда как у здорового человека с возрастом предположительно может появиться несколько клеток, содержащих до 10-12 канцерогенных мутаций [145]. Авторы считают, что эти мутации могут оказаться в структуре около 150 онкогенов и генов супрессоров ракового роста, повреждение которых приводит к канцерогенезу, причем частоты мутаций в нормальных клетках не могут объяснить наличие десятков и сотен тысяч мутаций, обнаруживаемых в раковых клетках, кроме того, скорость мутагенеза в раковых клетках в 200 раз выше, чем в нормальных клетках [145]. Считается, что клетки, вступившие на путь канцерогенеза, должны, прежде всего, стать мутантами по генам белков, участвующих в стабилизации генома. Подобные мутации понижают точность синтеза ДНК и эффективность репарации этого синтеза, а клетки, имеющие такие мутации, называют мутаторами [145]. Клетки-мутаторы характеризуются повышенной частотой спонтанного и индуцированного мутагенеза, что, в конце концов, приводит к малигнизации этих клеток. Такой фенотип является результатом повторных раундов селекции мутантной клетки, получившей преимущество роста, что позволяет потомству клетки пролиферировать и создать злокачественную опухоль, обладающую рядом основных черт: неограниченное

Факторы, влияющие на воспроизводство и малигнизацию СК

Факторы	Эффект
а) действие онкогенов	
генетические мутации	- нестабильность ДНК
суперэкспрессия гена p 170	- избыточный синтез Р-гликопротеина (p 170) - мембранная помпа для выброса из клетки токсических соединений; защищает клетку от цитокинов и факторов некроза опухоли, ПОЛ и др.
экспрессия "дикого типа" гена p 53	- экспрессия гена МДР и стимуляция роста;
суперэкспрессия ТФР- β	- супрессорное действие на Т- и В-клетки, уход из-под иммунного надзора, ростовый фактор опухоли, ангиогенная активность, рост метастазирования;
суперэкспрессия апоптоз - ингибирующих факторов (bcl-2 и др.);	- пролиферация клеток;
суперэкспрессия онкогенов семейства RAS, ERBB, MYC;	- малигнизация клетки;
суперэкспрессия фактор роста фибробластов (ФРФ);	- синтез коллагеназы II типа - митогенный, стромогенный, ангиогенный эффект; экспрессия ЦОГ-2 (простагландины - коканцерогены - повышают устойчивость СК к сигналом апоптоза);
синтез гликозилцерамида	- повышение устойчивости раковых клеток;
б) действие супрессорных генов	
экспрессия гена, ингибирующего теломеразу	- укорочение теломер, замедление пролиферации и апоптоз;
экспрессия гена p 53	- ингибирует теломеразу и обеспечивает контроль над клеточной пролиферацией, опосредованный апоптозом;
экспрессия генов факторов некроза опухолей (ФНО- α , β)	- цитотоксический эффект;
экспрессия цитокинов (ИЛ1-17)	- цитотоксический, антиоксидантный эффект;
экспрессия гена металлотioneинов (Mt)	- синтез Mt, антиоксидантное действие;
экспрессия гена МДР	- синтез p 170, обеспечивающий детоксикацию клетки (доменов, обогащенных метионином);
экспрессия генов 10 типов каспаз	- синтез протеаз, расщепление ДНК и гибель клетки;
синтез церамида	- цитотоксический эффект

число делений ("бессмертие"), отсутствие или уменьшение стадии клеточного цикла G₀, отсутствие контактного торможения деления, инвазивность, метастазирование и др. [145]. Автор отмечает, что в процессе развития и роста опухоли продолжается быстрый разнонаправленный мутагенез в ее клетках вследствие их мутаторной природы, при этом опухоль, первоначально являясь клоном одной раковой клетки, превращается в мозаику различных мутантных и мутаторных клеток, достигая макроскопических размеров. В настоящее время изучается в качестве варианта химиотерапии использование супермутагенов, способных поднять мутагенез в раковых клетках до уровня, несовместимого с их выживаемостью [145]. Основные эндогенные онкогены, супрессорные гены и стабилизаторы генома с определенным эффектом действия представлены в табл. 3.

Обобщенная схема взаимодействия основных потенциальных молекулярных, генетических и биохимических

показателей, определяющих дифференцировку СК, апоптоз и риск развития рака представлена на рис. 5 [2], где показано, что апоп-

тозингибирующее семейство bcl в взаимодействии с интегринами, RAS, RAF и другими онкогенами стимулируют пролиферацию, пов-

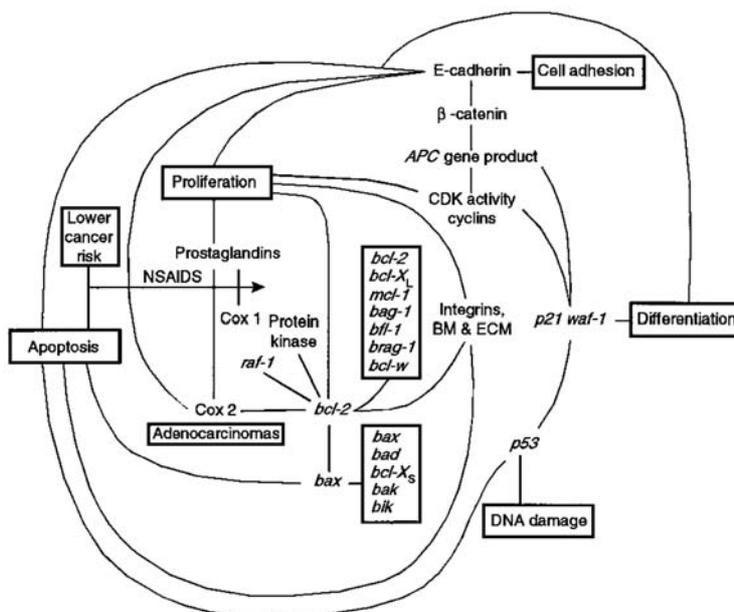


Рис. 5. Схема потенциальных молекулярных, генетических и биохимических взаимодействий, определяющих дифференцировку СК, апоптоз и риск рака (Ch. Potten, 1997)

реждения ДНК и повышают канцерогенный риск, в то же время семейство супрессорных проапоптозных генов *бax* понижают риск малигнизации.

Обнаружена существенная роль модифицирующих факторов различной природы (химических, физических, гормональных) в реализации трансплацентарного канцерогенеза при воздействии данных факторов на СК зародыша [82]. Установлено, что в опухолях, инициированных воздействием канцерогенного агента во время беременности, имеет место активация онкогенов семейства *ras* с их точковой мутацией. При этом потомство самцов, полученных до спаривания с интактными самками, более чувствительно к промотирующим факторам канцерогенеза (уретану и др.) по сравнению с контрольными животными, а потомство старых самцов и молодых самок более чувствительно к действию канцерогенов, чем потомство молодых самцов и самок. В опытах с синтетическим аналогом тимидина 5-бромодезоксисуридином впервые экспериментально получены убедительные доказательства достаточности избирательного повреждения ДНК СК для инициации канцерогенеза [82]. Экспериментами с введением канцерогенов и опухолевых промоторов в разном возрасте установлено, что с возрастом в различных тканях накапливаются клетки, подвергшиеся случайным воздействиям канцерогенных факторов и прошедшие более чем одну стадию на пути к ее полной малигнизации. Предполагается, что канцероген, эффект которого усиливается пропорционально возрасту в момент воздействия, действует на уже частично трансформированные в различной степени клетки [1,82,88,89], а от суммирующего эффекта проонкогенов, недостаточности супрессорных генов и стабилизаторов генома зависит риск малигнизации. Нельзя исключить, что развитие злокачественной опухоли способствует гибели индивидуума во имя сохранения генетической "чистоты" популяции. При этом в результате клонирования СК с накопленными мутациями в организме формируется некий автономный макроорганизм с клетками определенных фенотипов, обладающий независимой системой воспроизво-

дства смертельно опасных клеток, наделенных высокой теломеразной активностью, способных бесконечно делиться и метастазировать, максимально защищенных от иммунного надзора и других контролирующих систем. Можно предположить, что подобное формирование смертельного клона малигнизированных клеток, "убивающего хозяина", создано "эволюционной программой" для поддержания генетической "чистоты" популяции. Доказано, что канцерогенез и мутагенез — сопряженные процессы и мутагенез играет важную роль в злокачественном росте [2,82,145]. Это дает реальную возможность — судить о потенциальном канцерогенном риске химических агентов не только по способности вызывать рак у животных, а активно выявлять начальные стадии процесса — разнообразные мутации на батареях тестов [89].

Таким образом, от соотношения и концентрации регулирующих протеинов в микроокружении ниши (интерлейкинов, онкогенов, супрессорных генов, стабилизаторов генома, медиаторов иммунной системы и микроокружения СК) зависит парциальное воспроизводство различных элементов крови, СК грудной железы, кожи и других органов и тканей [116,103,115]. Хроническое воздействие химических и биологических факторов даже малой интенсивности вызывает дисбаланс регулирующих пептидов микроокружения, следствием чего является развитие гипорегенерации или пролиферации СК, а также повышается риск мутаций генов и малигнизации клеток [113,115,116,117].

Токсические эффекты воздействия химических веществ на СК. Высокую чувствительность СК к токсическим воздействиям химических веществ связывают с несовершенным потенциалом защитных механизмов, особенно в процессе их интенсивного деления и дифференцировки [80,82,83,105,125]. Повреждающее действие токсических соединений на СК связано преимущественно с их прооксидантным эффектом, в то же время известно, что основные компоненты антиоксидантной системы формируются в зрелых дифференцированных клетках. Например, такая мощная антиоксидантная система как система четырех изоформ металлотиионеи-

нов становится полноценной в клетках человека лишь к 14-15 годам [83], особенно в кроветворных клетках, что, возможно, является одной из причин более частого развития лейкозием у детей до 14 лет. В ряде работ обоснованы предпосылки по использованию СК в тестах на токсичность [84,85,86]. Отмечено избирательное повреждающее действие химических соединений на СК тех или иных органов. Так, ароматические углеводороды (бензол, толуол, ксилол и их соединения) преимущественно поражают СК гемопозитической системы [88,90]. При большой интенсивности токсического воздействия возможно наиболее глубокое поражение кроветворных органов. В этих случаях имеет место тотальное подавление кроветворения, нарушение пролиферации самих СК и частично детерминированных полипотентных клеток — предшественников гемопоэза [88]. Может нарушаться также способность этих клеток к дифференцировке клонов отдельных фенотипов (торможение гранулоцитопоэза, мегакариоцитопоэза, эритропоэза). Следствием глубокого нарушения кроветворения является прогрессирующая панцитопения (апластическая анемия) при воздействии бензола, толуола, ксилола, ФОС, цитостатиков и др. [84,98,90].

Менее интенсивное токсическое воздействие сопровождается угнетением пролиферации дифференцированных клеток крови (миелобластов, эритробластов, мегакариобластов) с парциальным поражением гранулоцитопоэза (прогрессирующая лейкопения), эритропоэза (парциальная гипопластическая анемия), тромбоцитопоэза (тромбоцитопения, геморрагический синдром) или синдром иммунодефицита [88,90]. Небольшие дозы бензола могут, подобно ионизирующему излучению низкой интенсивности, оказывать не угнетающее, а раздражающее действие на гемопоэз и стимулировать пролиферативные процессы [88]. При хроническом воздействии малых доз с течением времени гиперплазия костного мозга с генетическими повреждениями СК может подвергнуться бластному перерождению [84]. Нарушение под влиянием бензола митоза кроветворных клеток и кариокинеза, появление в связи с этим клеток с нераз-

делившимися ядрами и тетраплоидным набором хромосом приводят в конечном итоге к их перерождению в лейкозные клетки. Бластной трансформации кроветворных клеток способствуют повторные мутации, так как бензол является выраженным мутагеном, причем токсическое влияние на кроветворные клетки оказывает не так сам по себе бензол, как продукты его метаболизма (фенолы, бензохиноны и др.). Мутации в хромосомном аппарате кроветворных клеток и нарушение митоза обусловлены преимущественно токсическим влиянием фенолов [84]. Показана значительная опасность длительного воздействия малых доз дитиокарбаматов на клетки костного мозга [142]. Если после однократного введения малой дозы (14 мг / кг) манеба и других дитиокарбаматов кроликам частота хромосомных аберраций в клетках костного мозга не превышала 1,5 % при 1 % в контроле, то длительное введение той же малой дозы дитиокарбаматов в течение 4,5 месяцев повышало процент поврежденных хромосом клеток костного мозга до 5,8 % — 6,4 %.

Хлорзамещенные углеводороды жирного ряда (дихлорэтан, четыреххлористый углеводород), хлорорганические (ХОС), фосфорорганические (ФОС), ртутьорганические соединения (РОС) и многие другие вещества поражают не только ГСК, но и СК паренхиматозных органов (печени, почек, сердца), а также нервной системы [1,3,84]. Нарушение дифференцировки СК печени сопровождается активацией апоптоза и гибелью гепатоцитов с развитием токсического гепатита, а при выраженных интоксикациях — цирроза печени. Повторные мутации при хроническом воздействии малых доз способствуют малигнизации клеток печени [84,121,122,123].

Выявлено влияние интоксикации марганца на пролиферацию СК в гиппокампе мышей [147]. Одноразовое введение $MnCl_2$ в дозах 0,5, 20 и 50 мг / кг в/б сопровождалось дозозависимым снижением пролиферации нейрональных СК в субгранулярной области гиппокампа, тогда как длительное воздействие малой дозы (0,5 мг / кг) сопровождалось более значительным угнетением пролиферации нейрональных СК, выявлена положительная кор-

реляция между торможением пролиферации СК и степенью нарушения когнитивных и мнестических функций.

Изучение состояния различных пулов гемопоэтических мезенхимальных клеток-предшественников в костном мозге и периферической крови, а также динамики содержания регионарных клеток-предшественников в печени с использованием моноклональных антител, иммуногистохимических методов и ПЦР при экспериментальном токсическом гепатите показало участие гемопоэтических СК и мезенхимальных СК костного мозга в процессах регенерации печени при ее токсическом поражении или частичной гепатэктомии [121]. Установлена недостаточность либо несостоятельность указанных механизмов для восстановления ткани печени при токсическом или радиационном поражении [121,122]. Динамическое экспериментальное исследование процессов регенерации в печени в течение 4-12 месяцев после тотального ее облучения с последующей трансплантацией в печень СК костного мозга показало гетерогенность и пластичность различных линий СК, участвующих в репаративных процессах. Регенерация печени началась с колонизации мелких перидуктальных овальных клеток, которые фенотипически до 40 % были костномозгового происхождения, а до 24 % — печеночного [121]. Участие СК различного фенотипа в репаративных процессах выявлено и при перипортальном циррозе, индуцированном аллиловым спиртом [121] и другими токсикантами [123]. Авторы не исключают, что гетерогенный фенотип клеток при регенерации печени обусловлен паракринным влиянием СК костного мозга и других факторов микроокружения. По крайней мере, потенциал воспроизводства овальных СК печени *in vitro* резко возрастает при внесении в их культуру СК костного мозга [121]. Выявлены гепатопротекторные свойства препаратов гранулоцитарного колонийстимулирующего фактора (Г-КСФ) и сверхмалых доз антител к Г-КСФ [86]. Показана высокая противосклеротическая эффективность данных средств, а также противовоспалительная активность препарата анти-Г-КСФ. Гепатопротекторное действие обоих препаратов связано

со стимуляцией, мобилизацией, миграцией и детерминированным хомингом в пораженную печень мезенхимальных СК [86].

К последствиям воздействия ксенобиотиков, оказывающих повреждающее воздействие на эндокринную систему, особенно на СК эндокринных органов, относят развитие злокачественных опухолей органов репродуктивной системы, эндометриоз, раннее наступление половой зрелости или менопаузы, нарушения сперматогенеза и др. [87,93]. Показано, что воздействие на кроветворные СК бензолом или 1,4-бензохиноном индуцирует экспрессию генов, специфичных для пола и в очень низких дозах — прооксидантный и цитотоксический эффект независимо от пола [90]. Известно, что мыши-самцы более чувствительны к токсическому действию ряда химических веществ, особенно бензола при его ингаляции [90]. Поскольку кроветворные стволовые клетки (КСК) являются мишенями для цитотоксического действия бензола, авторы исследовали повреждение ДНК в КСК мышей 129/SvJ обоих полов при воздействии 1,4-бензохинона *in vitro* и бензола *in vivo* [90]. Бензохинон является высокореактивным метаболитом бензола и вызывает повреждение клеток, образуя соединения с белками и ДНК и продуцируя реактивные формы кислорода, формирующие нестабильность ДНК и генома. При культивировании КСК в течение 24 ч. в присутствии бензохинона обнаружен цитотоксический эффект, независимо от пола животных и дозы агента [90]. Изучение РНК и ДНК, выделенных из КСК, подвергнутых воздействию бензохинона, или из КСК от мышей, вдыхавших очень низкие дозы паров бензола (100 частей на миллион), свидетельствовало о нарушениях апоптоза, репарации ДНК, клеточного цикла и генов, контролирующих рост. Различия в экспрессии генов свидетельствовали о большей чувствительности к бензолу генов СК самцов, особенно сперматогонияльных клеток. Большая уязвимость генов СК у особей мужского пола при воздействии повреждающих агентов, видимо, обусловили, наблюдающиеся за последние десятилетия изменения мужской Y-хромосомы в зародыше-

вых клетках [82,87]. Y-хромосома наиболее чувствительна к влияниям окружающей среды, являясь проводником экологической информации в геноме. Под воздействием внешних факторов происходит необратимая деградация мужской Y-хромосомы, изменение и разрушение ее генов. У большинства современных мужчин Y-хромосома значительно меньше X-хромосомы, в 30 % случаев похожа на букву "V". Если X-хромосома содержит 3000-4000 генов, то Y-хромосома, содержащая 1500-2000 генов 50 лет назад, сейчас содержит 30-40 генов. Дегенерация Y-хромосомы выявлена у 15 % бесплодных мужчин, у 1 из 3000 мужчин обнаруживается лишь X-хромосома [108,109,110]. Продолжающееся уменьшение Y-хромосомы, а тем более ее полное разрушение повышают риск модификации поведения мужского пола, роста числа бесплодных мужчин и мужчин с женским типом поведения в связи с доминированием X-хромосомы [108,110].

О токсическом влиянии на стволовые сперматогониальные клетки и Y-хромосому сообщается при воздействии малых доз соединений серебра (Ag) и платины, особенно в нанофазе [1], парабенатов [92] и других соединений [88,89]. Особая цитотоксичность наночастиц Ag, даже на уровне малых доз (1 мг на мл), выявлена при их воздействии на стволовые сперматогониальные клетки млекопитающих и на СК волосяных фолликулов и ногтевого ложа, поражение которых сопровождается нарушением сперматогенеза и алопецией [126,127]. Мы наблюдали случаи тотальной алопеции у рабочих, занимавшихся плавкой Ag при нарушении гигиенических регламентов. Так, содержание Ag в крови у ювелира с тотальной алопецией и аплазией ногтевых пластинок, который в течение 6 лет занимался плавкой Ag при отсутствии вентиляции, превышало нормативные уровни в 28 раз, а в остатках волос — в 8,5 раз. Одновременно у больного наблюдалось нарушение сперматогенеза. Как тотальная алопеция, так и нарушения сперматогенеза, вероятно, связаны с токсическим воздействием паров Ag на СК, в том числе нельзя исключить и воздействие частиц Ag в нанофазе.

В последние годы показано, что парабены, используемые в качестве

антимикробных средств в пищевых продуктах, косметике и фармацевтике, вызывают *in vivo* в низких дозах утеротрофическую реакцию [92]. В эксперименте показано, что парабены влияют на стволовые сперматогониальные клетки, следствием чего являются токсические эффекты на поздней стадии сперматогенеза, увеличение числа мертворождений и снижение массы тела у потомства. Кроме того, у детенышей мужского пола отмечается снижение количества и подвижности сперматозоидов, а также деградация Y-хромосомы у самцов, что обуславливает необходимость дальнейшего изучения безопасности применения парабенов в качестве антимикробных средств в пищевой промышленности и косметике.

Особенно ярко выражается эффект малых доз на геномную нестабильность СК при воздействии низких уровней ионизирующей радиации [81,94,95]. Изучение биохимико-цитогенетических изменений в крови у людей, подвергшихся радиационному воздействию в малых дозах показало [94], что при длительном низкоинтенсивном облучении популяции людей цитобиохимические изменения существенно отличаются от нарушений, вызванных высокими дозами. При низких дозах наблюдается положительная корреляционная зависимость между уровнем антиоксидантов — восстановленного глутатиона, витамина А в плазме и частотой индекса разрыва хроматид в лимфоцитах периферической крови и ГСК. С увеличением дозы характер зависимости меняется: увеличивается частота хроматидных аберраций в лимфоцитах и снижается содержание жирорастворимых антиоксидантов в плазме у обследованных лиц [94].

Комплексное изучение по цитогенетическим и иммуногенетическим критериям состояния генома лимфоцитов и ГСК у отцов-ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и их необлученных детей выявило в обоих поколениях повышенные частоты аберраций хромосом, генных мутаций (TCR-мутации) и предикторов апоптоза (клетки с иммунофенотипом CD 95⁺, экспрессирующие FAS-маркер апоптоза) [95]. Выявлена более выраженная индукция геномной нестабильности в ор-

ганизме необлученных детей по сравнению с отцами-ликвидаторами. Наблюдалась индивидуальная вариабельность дестабилизации генома, которая проявлялась как разнообразием спектра трансгенерационных мутационных эффектов, так и различной степенью их выраженности, что свидетельствует о наследовании молекулярно-генетических дефектов, вызванных воздействием малых доз с нарастанием их выраженности у потомства [95].

Для оценки действия факторов малой интенсивности на СК предлагается исследовать оригинальный феномен — автономную пролиферацию СК костного мозга [96]. Изучение СК костного мозга рабочих, подвергшихся химическому воздействию факторов малой интенсивности, позволило выявить проявление внутренней способности к автономной пролиферации [96]. Автономная пролиферация СК костного мозга (CFU-C) является патологическим феноменом, встречающимся при многих гематологических нарушениях. Изучение нейтропении у 31 человека, контактирующих с продуктами перегонки нефти в течение 5-30 лет показало, что у 18 из них имелось повышенное содержание СК с фенотипом CFU-C по сравнению с контрольной группой, причем у 4 из 18 человек развились злокачественные гематологические заболевания. Авторы связывают развитие гематологических нарушений, обусловленных длительным воздействием малых доз химических миелотоксических метаболитов, с влиянием цитокинов макрофагального происхождения.

В ряде работ показано токсическое влияние малых доз канцерогенов табака на СК [97,98]. Авторы определяют СК как новые молекулярные мишени малых доз токсических веществ, содержащихся в жевательном и курительном табаке. Исследованы СК линии AMOL III из очагов гиперплазии с гиперкератозом ротовой полости людей, употребляющих табак для жевания [97]. При этом выявлена повышенная регуляция экспрессии 12 генов и пониженная регуляция 2 генов. Большинство исследованных генов было связано с нарушением регуляции процессов транскрипции, межклеточной адгезии, а также с механизмами клеточной сигнализации, рос-

та и трансформации. Воздействие табака на СК эпителия слизистой оболочки ротовой полости сопровождалось повышением экспрессии фосфатидилинозитолсинтазы, фермента биосинтеза фосфатидилинозитола, СДРТ, рибосомального белка RPS 23 и фактора роста и трансформации, что может обусловить повышенный риск малигнизации эпителия.

Показано влияние курения на риск возникновения бронхиальной астмы (БА) в зависимости от носительства различных генотипов полиморфизма Pro 198 Leu гена глутатионпероксидазы 1-го типа (GPX 1) в СК легких [98]. Образцы ДНК 195 больных БА и 167 здоровых добровольцев использовали для генотипирования полиморфизма Pro 198 Leu GPX 1 с помощью ПЦР и рестрикционного анализа [95,96]. Обнаружено, что гетерозиготный генотип 198 Pro/Leu ассоциирован с предрасположенностью курящих мужчин к аллергической форме БА (отношение шансов 2,51 при 95 % доверительном интервале от 1,04 до 6,06; $p = 0,04$). Показано важное значение изучения молекулярно-генетических механизмов в СК легких, посредством которых функциональные варианты генов ферментной антиоксидантной защиты способны опосредовать прооксидантные эффекты табачного дыма на формирование астматического фенотипа.

Большинство исследователей утверждают, что цитотоксические и генотоксические эффекты малых доз химических веществ и низких уровней ионизирующей радиации на СК опосредуются их прооксидантным действием [81,99,100,101]. Это подтверждено и при оценке цитотоксического эффекта мышьяка (As) на СК [99]. Воздействие As^{3+} на культуру СК кишечника человека Caco-2 сопровождалось повышением в них отношения содержания G-SH / G-SS-G [99]. По мере увеличения концентрации As^{3+} проницаемость клеточного монослоя в направлении от апикальной поверхности к базолатеральной снижалась, что отражало существование механизма его транспорта.

Изучена индукция оксидативного стресса при кратковременном воздействии малых доз озона на стволовые мезенхимальные клетки

ТНР-1 [100]. Воздействие озона на СК-предшественники макрофагов человека линии ТНР-1 в течение 30 мин. стимулировало в последующие 4-24 часа повышение содержания в клеточных мембранах веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в 3,2 раза и экспрессию гемоксигеназы-1 на 35 %. При этом выявлены также изменения содержания в клетках G-SH и активности антиоксидантных ферментов, в связи с чем авторы считают, что выявленные изменения обусловлены оксидативным стрессом. Описаны цитотоксические и генотоксические эффекты малых доз инсектицида диазинона на СК человека [101]. Эстроген-чувствительную линию СК человека MCF-7 обрабатывали инсектицидом диазиноном в концентрации 30,50 и 67 нМ. Показано, что этот препарат даже в низких дозах вызывает изменения в экспрессии более 30 генов, спектр которых зависит от концентрации диазинона [101]. Экспрессию двух из этих генов — TGF- β 3 и кальретикулина — проанализировали более детально с использованием ПЦР в реальном времени. Так как оба гена кодируют важные для эмбриогенеза белки, авторы предположили, что диазонин может воздействовать на развитие плода человека. В эксперименте на крысах подтверждены эмбриотоксические эффекты данного инсектицида. Авторы утверждают, что эмбриотоксические, тератогенные и другие эффекты ксенобиотиков можно прогнозировать по генотоксическим эффектам на СК.

С нарушением потенциала клеточного воспроизводства СК при воздействии химических факторов связывают и развитие атеросклероза [114]. Инфузии СК костного мозга от молодых доноров приостанавливают развитие атеросклероза и формирование бляшек в артериях на 40-60 %, особенно в аорте. СК костного мозга превращаются в эндотелиальные клетки, которые фиксируются в местах наибольшего поражения и способствуют репаративным процессам в артериях. Показано, что теломеры в этих стволовых эндотелиальных клетках значительно длиннее, что отражает высокий потенциал воспроизводства СК. Отмечено, что модификация стиля жизни и диеты способна повысить потенциал воспроизводства у СК и

предупредить развитие атеросклероза и ИБС, а СК считают резервом омоложения. В то же время комбинация высококалорийной диеты с загрязнением воздуха, особенно частицами в нанофазе, понижают потенциал воспроизводства СК и в 1,5 раза повышают риск развития сердечно-сосудистой патологии [114].

Наиболее широко изучена иерархия СК кишечного эпителия, свидетельствующая о сложном взаимодействии факторов роста и регуляторных генов, определяющих характеристику, темп и направление дифференцировки или гибель СК. С. Potten and all [1,2,125] на протяжении 30 лет изучают механизмы воспроизводства СК эпителия тонкого и толстого кишечника. Авторы показали, что СК эпителия толстого кишечника находятся в склепах преимущественно на дне лаберкуновых крипт, обладают высоким потенциалом воспроизводства и обеспечивают обновление эпителия каждые 2-3 дня. У мыши вплоть до 60 % клеток склепа делятся дважды ежедневно [125], при этом происходит непрерывная направленная миграция делящихся СК с нижних циркулярных слоев вверх. Склеп содержит 250-300 СК по 18 клеток в циркулярном слое, при этом 36 СК верхних слоев обладают наиболее высокой клоногенной активностью [1,2]. На дне склепа и в специальных нишах в подслизистом слое тонкого и толстого кишечника (рис. 6 и 7) располагаются длительноживущие СК с меньшим клоногенным потенциалом. Большая роль в обеспечении гомеостаза СК кишечного эпителия отводится генам, регулирующим апоптоз. Низкие уровни радиационного излучения, химиотерапевтических цитостатиков и некоторых мутагенов сокращают время существования СК тонкого кишечника в 6-10 раз и вызывают апоптоз СК тонкого кишечника через 3-6 часов. Этот ранний апоптоз СК полностью опосредован апоптозрегулирующим геном p 53, тогда как поздняя волна апоптоза (около 24 ч.) ассоциирована с гипорегенерационным процессом, зависима от взаимодействия факторов микроокружения ниши. После воздействия повышенных уровней радиации (14,5 Gy) наблюдается опустошение ниши, в которой остаются жизнеспособные СК.

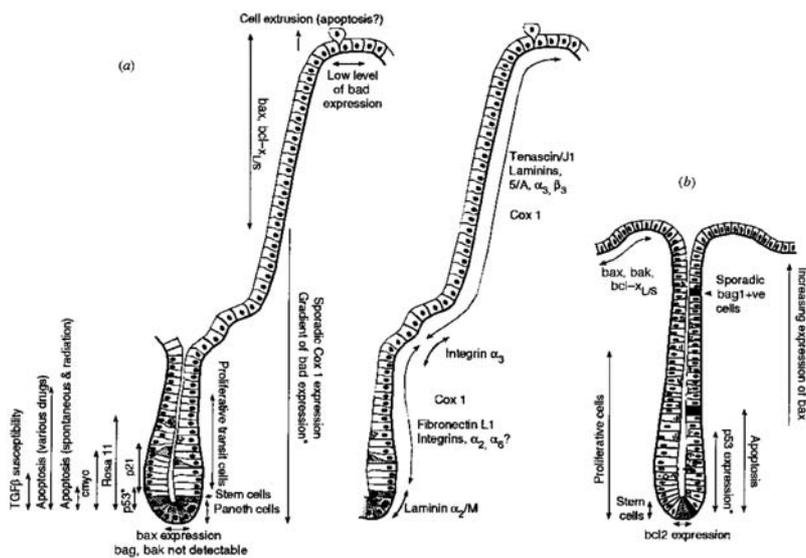


Рис. 6. Диаграмма, изображающая пространственное расположение связанных с апоптозом генов и протеинов микроокружения СК в тонком (а) и толстом (б) кишечнике [125]

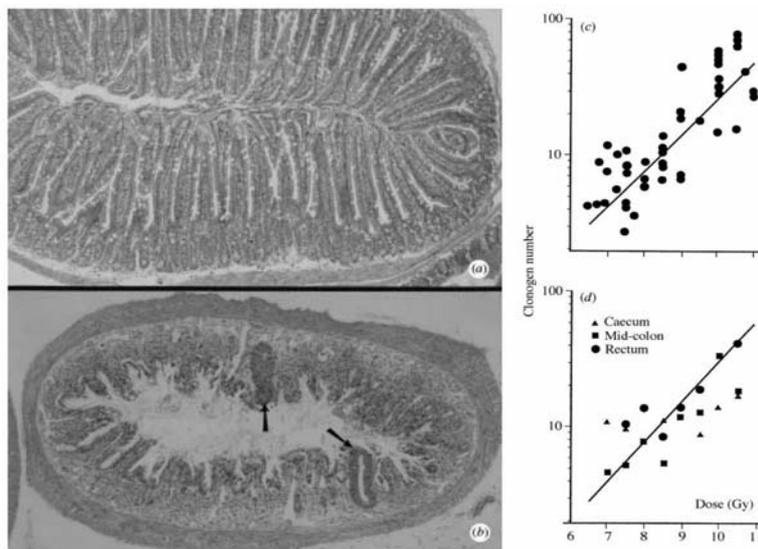


Рис. 7. Срез тонкого кишечника до (а) и через 4 дня после облучения 14,5 Gy (б) с признаками восстановления ниш со СК [125]

собными 4-6 СК, но уже через 4 дня отмечается регенерация колоний СК (рис. 7) [2], причем в склепе появляются 3-4 дополнительных выпячивания в виде разветвлений склепа (рис. 8,с). При воздействии больших доз радиации (свыше 14-17 Gy) опустошается большинство склепов, но через 3-4-7 дней начинается клоногенное восстановление склепов, находящихся в первую очередь вблизи Пейеровых бляшек. Вероятно, микроокружение склепов вблизи Пейеровых бляшек обогачено радиопротекторными и клоногенными протеинами, а также сигнальными жизнеобеспечивающими факторами иммунокомпетентных

клеток, способствующих воспроизводству СК [1,2].

СК в тонком кишечнике преимущественно локализованы в складках в количестве от двух до семи в каждом склепе, окруженные дочерними клетками в разной стадии дифференцировки (рис. 6) [125]. Показано, что пространственную организацию, пролиферативный потенциал, апоптоз (в норме от 1 до 10 % в день) и миграцию дочерних клеток на вершину кишечных ворсинок регулируют факторы микроокружения — специфические протеины, в частности семейства белков p-53, bcl-2, а также взаимодействие Т-клеточных факторов

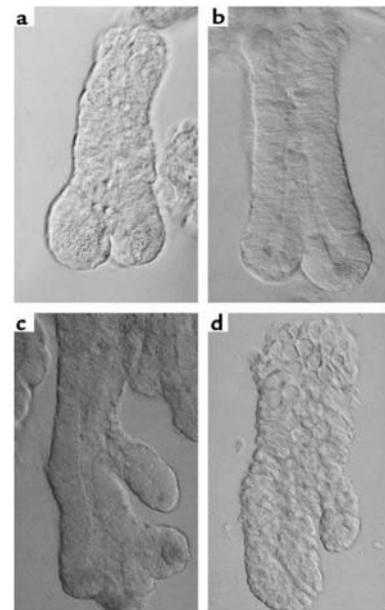


Рис. 8. Примеры "самопроизвольного" расщепления склепа со СК в нормальной тонкой кишке мыши (а, б) и множественное расщепление склепа 12 Gy (с), формирование нового склепа через 4 дня после облучения (d) [125]

(TCF), преимущественно TCF-4 с β -катенином и протеинами, секретруемыми клетками Панета, расположенными на дне склепов (рис. 6). С. Potten and all [1,2,125] сообщают о выделении первого естественного маркера СК тонкого кишечника — протеина Msi-1. Показано, что ингибиторный фактор TGF способствует выживанию клона СК, увеличивая скорость репаративных процессов при воздействии токсических факторов, а фактор роста $\beta 3$ оказывает радиопротекторное действие на СК склепа [125]. В свою очередь, чрезвычайно малые дозы излучения (0,01-0,05 Gy) повышают уровни апоптоза в СК в тонкой кишке. Применение цитостатиков, мутагенов и ишемии показало, что все эпителиальные клетки тонкой кишки, включая каемчатые энтероциты, способны к формированию апоптозной программы после соответствующего вида повреждения [1,2]. Особенно высокая активация проапоптозного гена p 53 наблюдается через 2-4 часа после облучения в СК, находящихся по периферии ниши или выше склепа, причем после удаления (нокаута) гена p 53 апоптоз при воздействии облучения и мутагенов полностью отсутствует. Авторы утверждают, что гены p 53 (а так-

же р 21 WaA^{IP}) вовлекаются в контрольно-пропускные теломеразные пункты клеточного цикла, а при мутациях генов р 53 нарушается контроль и повышается риск малигнизации. При воздействии ДНК-повреждающих факторов даже малой интенсивности, СК тонкого кишечника не пытаются восстановить повреждения, даже единичные точечные мутации, а активизируют самоубийство клеток путем р 53-опосредованного апоптоза. Вероятно, поэтому в тонком кишечнике чаще наблюдаются гипорегенераторные процессы, чем гиперпластические нарушения и злокачественный рост. Особенно активны р 53-опосредованные процессы апоптоза в 12-перстной кишке, видимо, поэтому в этой кишке практически никогда не бывает рака, несмотря на постоянное агрессивное воздействие желчных кислот и ферментов поджелудочной железы. Самопроизвольный апоптоз в тонкой кишке — часть гомеостатического процесса в СК, обеспечивающая точную архитектуру склепа [2]. Даже единственная дополнительная СК производит 64-128 добавочных клеток, которые могут серьезно исказить архитектуру склепа и станут причиной гиперпластического процесса. В толстом кишечнике этот гомеостатический механизм не столь эффективен в связи с высокой экспрессией антиапоптозных генов семейства bcl-2 (bag, bax, bad, bcl-xL/S и др.). Кроме того, в толстом, кишечнике отмечается как низкая экспрессия гена р 53, так и очень частая его мутация. СК с мутацией генов семейства р 53 обнаруживают в толстом кишечнике в основе склепа возле аденом, в аденокарциномах и карциномах [1,2,125]. Авторы отводят генам семейства bcl-2 цитопротекторную антиапоптозную роль, предотвращающую удаление клеток с ДНК повреждениями, что несомненно способствует выживанию стволовых и их дочерних клеток в агрессивной среде толстого кишечника (обусловленной процессами брожения, эндотоксинами, эндофенолами и др.), но высокий антиапоптозный эффект, в свою очередь, повышает риск гиперпластических процессов и злокачественного роста.

Апоптоз выполняет роль биологических часов СК, ограничивающих время их жизни и является ге-

нетически контролируемым процессом, направленным на элиминацию поврежденных СК с нестабильностью ДНК, хромосом и генома. Супрессия, гиперэкспрессия или мутации генов, контролирующих апоптоз, приводят к ингибированию или активации апоптоза [1,2,103,125]. В то же время суперэкспрессия проапоптозных генов СК и активация апоптоза обуславливает недостаточное воспроизводство взрослых дифференцированных клеток и является причиной развития гипорегенераторных процессов (апластических и гипопластических анемий, атрофических бронхитов, гастритов, язвенных гастродуоденитов, колитов и др.) [1,2]. Супрессия проапоптозных генов (р 53 и др.) и гиперэкспрессия антиапоптозных генов (семейства bcl-2) замедляют гибель поврежденных СК, в которых накапливающиеся мутации достигают критической точки и инициируют развитие гиперпролиферативных, аутоиммунных и опухолевых заболеваний (злокачественных солидных новообразований, лимфом, лейкоми и др.), в связи с этим рассматриваются перспективы патогенетически обоснованного применения модуляторов апоптоза в качестве цитопротекторов. Активируют апоптоз как различные экзогенные агенты (цитостатики, канцерогены, оксиданты, тяжелые металлы, пестициды УФ или γ -излучение и др.), так и эндогенные факторы (проапоптозные гены и белки, Ca²⁺, глюкокортикостероиды, нейротрансмиттеры, АТФ, NO, интерлейкины, каспазы, ангиотензин, Fas-лиганд и др.) [125,128]. Снижает интенсивность апоптоза ряд цитопротекторных агентов, обладающих антиоксидантным эффектом и ингибирующих активность каспас и киназ, кальций-блокаторы, ряд ингибиторов АПФ, кверцетин, альфа-1 антитрипсин, отдельные β -блокаторы (карведилол), предуктал, глицирризин, рилузол, флупиртин и др. [128,129]. Ожидается прогресс в непосредственном поиске веществ, воздействующих тем или иным образом на гены или белки, регулирующие апоптоз [125,128], направленных как на его ингибацию при действии повреждающих химических и физических факторов, так и на его активацию для предупреждения или замедления злокачественного роста.

При воздействии отдельных соединений, в частности серосодержащих, отмечены наоборот апоптоз-стимулирующие антипролиферативные эффекты [102]. Так, воздействие SO₂ на СК печени в концентрации 14-56 мг / м³ по 6 ч. в день в течение 7 дней стимулирует экспрессию в печени м РНК, генов-промоторов апоптоза р 53 и апоптоз-стимулирующего белка bax максимально в 3,43 и 2,17 раза соответственно, при этом экспрессия гена-супрессора апоптоза bcl-2 снижалась [102]. Возможно, серосодержащие соединения активируют тиолсодержащую антиоксидантную систему металлотионеинов, обеспечивающую антипролиферативные эффекты.

Выявлено влияние малых доз экстрактов конденсата, частиц и полелетучих органических соединений выхлопа бензинового двигателя на окислительное повреждение и генотоксичность сперматогонийных клеток крыс [137], при этом наблюдалось повышение содержания малонового диальдегида, снижение активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и повреждение клеточной ДНК. Кроме того, установлено, что наночастицы выхлопа дизельного двигателя вызывают торможение пролиферации СК Лейдига семенников мыши линии ТМЗ в культуре [138]. Воздействие этих наночастиц стимулировало в клетках экспрессию гемоксигеназы-1, являющейся маркером окислительного стресса, и экспрессию гена белка STAR, регулирующего транспорт холестерина в митохондриях. Авторы отмечают, что в основе влияния наночастиц выхлопов автомобильного транспорта на жизнеспособность, пролиферацию и экспрессию генов дифференцирующихся клеток лежат прооксидантные эффекты. Эти исследования свидетельствуют о возможном неблагоприятном влиянии на сперматогенез и дифференцировку других СК экологических факторов малой интенсивности.

Изучение влияния гипоксии, как повреждающего агента, на пролиферацию и дифференцировку нейронных СК in situ [139] показало, что влияние гипоксии сопровождается усиленной пролиферацией СК в головном мозге (особенно в субвентрикулярном участке). Одна-

ко способность к нейронной (в частности, к формированию дофаминергических нейронов) или астрональной дифференцировке в популяции, возникших в результате пролиферативного процесса клеток, отсутствовала. Использование СК для оценки токсичности химических веществ, УФ или γ -излучения и других повреждающих агентов в настоящее время основывается не только на выявлении нарушений функций дифференцирующихся клеток, их структурных повреждений и изменении пролиферативного потенциала [1,2,105,138], но и на определении освобождающихся внутриклеточных протеаз в результате повреждения мембран СК с использованием протеолитических биомаркеров и биолюминесцентных тестов [140].

Таким образом, репаративные процессы в различных органах и системах обеспечиваются гетерогенной популяцией СК, расположенных как на уровнях барьерных органов (кожи, слизистых оболочек и др.), так и в специфических нишах в складках слизистых оболочек, в подслизистом слое, в глубине каждого органа, а также гемопозитическими и мезенхимальными СК костного мозга, плацентарной крови и мезенхимальными СК жировой ткани. Структуру, фенотип, потенциал воспроизводства и функции СК "дирижует" биохимическое микроокружение ниши, представленное различными протеинами, интерлейкинами, ростовыми факторами, экспрессируемыми макрофагами, клетками иммунного надзора и другими структурами, обеспечивающими нейро-гуморальную регуляцию. Молекулярно-генетическая регуляция экспрессии модулирующих протеинов и ферментов обеспечивает их противоопухотворческую или онкогенную направленность, ускоряет или замедляет апоптоз СК, предотвращает или повышает риск малигнизации клеток. Интенсивное химическое, биологическое или радиационное воздействие чаще всего сопровождается гибелью уязвимых СК. Разовое, периодическое воздействие факторов малой интенсивности вызывает функциональные нарушения или повреждения в СК вплоть до нестабильности ДНК и начальной мутации, которые обычно носят обратимый характер за

счет репаративных процессов под воздействием восстановительных факторов микроокружения ниши [103,104,111]. В то же время, функциональные и нестойкие повреждения в СК понижают потенциал их воспроизводства и способствуют формированию гипорегенераторных синдромов с развитием хронических ринофарингитов, бронхитов, гастритов, колитов, анемии и различных гипоплазий [103,107,116], в зависимости от области и степени воздействия повреждающих агентов. Гипорегенераторные синдромы из-за повышенной проницаемости барьеров кожи, слизистых оболочек, гематоэнцефалического барьера и др. характеризуются повышенной всасываемостью и проницаемостью для токсических веществ и инфекций, сопровождаются недостаточностью иммунной системы, часто осложняются поливалентной сенсibilизацией, экзо- и эндотоксикозом, дисбактериозом [103,111,122,123,124]. Развитию гипорегенераторных синдромов способствуют стрессовые ситуации, оксидантные реакции, механическое повреждение слизистой или кожи, дисгормональные нарушения, авитаминоз, микроэлементоз [123,124]. В то же время начальные мутации генов в СК могут инициировать экспрессию различных белков, запускающих гипертрофические процессы и аутоиммунные реакции, пролиферативные заболевания соединительной ткани, крови и др. [111,124]. В свою очередь, для формирования повторных стойких мутаций в СК и их клонового воспроизводства необходимо длительное постоянное воздействие факторов малой интенсивности на организм. Так, ежедневное длительное облучение участка кожи мышей УФ-излучением с длиной волн 280-320 нм. — главным канцерогенным компонентом солнечного света [115] или ежедневное воздействие на кожу малых доз мутагена диметилбенз(а)антрацена в течение нескольких недель [119] вызывают в коже прооксидантные эффекты, ингибируют межклеточное взаимодействие, стимулируют экспрессию факторов роста и воспаление, пресекают иммунный надзор и вызывают гибель фланговых СК в нише, несущих защитную барьерную функцию. Эти процессы сопровож-

даются относительно медленным накоплением в нише апоптозрезистентных СК со стойкой мутацией гена p 53 (более 10 %) и последующим быстрым плановым воспроизводством p 53-мутантных СК с длительным пролиферативным потенциалом, при этом клоновое воспроизводство мутантных клеток колонизирует и соседние ниши со СК [115,127]. Длительное воздействие факторов малой интенсивности на организм вызывает медленное накопление апоптозрезистентных СК со стойкой мутацией гена p 53 с высоким и длительным пролиферативным потенциалом. Хроническое воздействие факторов малой интенсивности позволяет мутантным клеткам избегать влияния иммунного надзора, контроля барьерных СК ниши и протеинов микроокружения, что сопровождается развитием пролиферативных процессов и повышает риск малигнизации. Показано, что сочетанное радиоактивное и пестицидное загрязнение низкой интенсивности способствует развитию как защитных реакций в отдельных системах, в частности в коже в виде пролиферативного гиперкератоза, так и иммунопатологических — за счет активации клеточного слоя эпидермиса, в связи с чем восстановление приобретает затяжной гиперэргический характер [120]. Обоснованно, что лица с дерматологическими заболеваниями, связанными с нарушениями пролиферации и дифференцировки кератиноцитов, должны рассматриваться как группа риска в отношении развития злокачественных заболеваний кожи. Особый риск воздействия факторов малой интенсивности (УФ или γ -излучение, токсическое воздействие) связан с наследованием молекулярно-генетических дефектов в СК и нарастанием их выраженности у потомства, что несомненно нужно учитывать при оценке и профилактике неблагоприятных влияний на здоровье населения последствий Чернобыльской аварии.

Учитывая, что генетически-молекулярная диагностика предрасположенности к различным заболеваниям и раку еще недостаточно доступна, следует при профотборе не допускать лиц с семейными случаями определенного рака к работе с химическими канцерогенами. Лица с неблагоприятными особенностями

ми генотипа должны в наибольшей степени избегать контакта с канцерогенами, чаще подвергаться медицинским осмотрам, а также ограничить контакт с промоторами (высококалорийной пищей, медикаментами-промоторами, УФО и др.), а также употреблять повышенное количество жидкости для снижения в организме концентрации экзо- и эндогенных канцерогенных метаболитов. Большое значение должно придаваться возможности прогнозирования индивидуальной чувствительности к химическим канцерогенам по оценке специфических маркеров: активности ферментов, осуществляющих биотрансформацию канцерогенов, уровня промутагенных аддуктов ДНК с канцерогенами в моче и т.д. [83,84].

При действии химических канцерогенов в плане профилактики новообразований важную роль должна играть идентификация генов у рабочих, зародышевые мутации в которых являются причиной профессионального рака. Особое значение должно придаваться профотбору, при котором для работы с химическими канцерогенами не должны допускаться лица с носительством зародышевых мутаций генов, являющихся причиной так называемых семейных раков, так как канцерогены ускоряют реализацию развития опухоли. Так, развитие ретинобластомы ассоциировано с носительством мутированного аллеля антионкогена RB-1, рак молочной железы — с BRCA-1 и 2, полипоз толстой кишки — с APC, нефробластома — с WT-1 и т.д. [82], поэтому в прогнозировании раннего развития рака большая роль отводится идентификации генетических маркеров, с которыми ассоциируется развитие неопластического процесса в различных органах.

Благодаря учрежденной европейским советом химической индустрии программы LRI [131], направленной на разработку альтернативных исследований безопасности химических веществ без экспериментов на живых животных, оценка

токсичности химических веществ в 30-40 % случаев стала проводиться с использованием культур эмбриональных и соматических стволовых клеток. В то же время обращается особое внимание на требования к качеству лабораторного оборудования и организации рабочих мест, а также на стандартизацию используемых тест-систем, обеспечивающих стабильность получаемых результатов при использовании клеточных культур в токсикологическом эксперименте [132].

В качестве нового подхода к оценке эмбриотоксичности обосновано использование автоматизированного анализа контрактильности в тесте с эмбриональными СК с регистрацией амплитуды и частоты сокращений СК мышей линии D 3 [133]. Предлагается использование СК почек в качестве биомаркеров острой нефротоксичности [134]. Проанализировав патофизиологические механизмы, опосредующие эффекты нефротоксикантов, проявляющиеся различными клиническими формами поражения почек, авторы отмечают, что широко используемое для диагностики поражения почек определение содержания креатинина в крови является недостаточно чувствительным и специфичным, а использование СК в качестве биомаркеров нефротоксичности более информативно, особенно при воздействии факторов малой интенсивности [134].

Нужно учитывать, что при культивировании СК и без добавления ксенобиотиков несколько меняется геномный и протеомный профиль. Геномный и протеомный анализ гепатоцитов в первичной культуре показал, что через 24 час от начала их культивирования отмечено снижение экспрессии ферментов I и II фазы метаболизма ксенобиотиков (изоформы цитохрома р 450, глутатион-S-трансферазы, сульфотрансферазы) и антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы [148]. Повышения экспрессии белков острой фазы (липополисахарид, связывающий белок, α -2-макрогло-

булин, ферритин, ингибитор В-сериновой протеиназы, гаптоглобин) при этом не происходит. Отмечено параллельное повышение экспрессии ряда структурных генов (β -актин, α -тубулин, виментин). Результаты исследований еще раз свидетельствуют о необходимости стандартизации методов с использованием СК в токсикологии, об обязательном проведении контрольных исследований и специального подбора эффективных доз ксенобиотиков для эксперимента. Описаны первые этапы установления методов тестирования токсического воздействия на СК в опытах *in vitro* на развитие эмбриона человека [149]. Отмечено, что использование СК человека позволит избежать ложных результатов в оценке эмбриотоксичности веществ в связи с возможными видовыми особенностями их эффектов.

Таким образом, в основе профилактики общесоматической и онкологической патологии должно лежать предупреждение повреждающих эффектов на СК химических и физических факторов и своевременная диагностика и лечение ранних форм заболеваний, возникающих вследствие нарушения потенциала воспроизводства СК (гипорегенераторных и гиперпролиферативных процессов). Применение модели эмбриональных и взрослых СК должно найти более широкое применение в токсикологическом и фармакологическом тестировании, гигиеническом регламентировании и определении генотоксического, эмбриотоксического и тератогенного эффекта ксенобиотиков, пестицидов, лекарственных препаратов и промышленных отходов. Углубленный анализ молекулярно-генетических основ функционирования СК и механизмов нарушения их дифференцировки при воздействии химических факторов разной интенсивности с установлением корреляции между дозозависимым токсическим действием и биологическим потенциалом СК является приоритетным направлением современной токсикологии.

1. Potten C.S. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt / C.S. Potten, M. Loeffler // *Development*. — 1990. — 110. — P. 1001-1020.
2. Potten C.S. Stem cells in gastro-intestinal epithelium: numbers, characteristics and death / C.S. Potten // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* — 1998. — 353. — P. 821-830.
3. La Barge M.A. Human mammary progenitor cell fate decisions are products in interactions with combinatorial microenvironments / M.A. La Barge, C.M. Nelson, R. Villadsen [et al.] // *Integr. Biol.* — 2009. — 1. — P. 70-79.
4. Rosenthal N. Prometheus's vulture and the stem-cell promise / N. Rosenthal // *N. Engl. J. Med.* — 2003. — 349. — P. 267-274.
5. Wagers A.J. Plasticity of adult stem cells / A.J. Wagers, I.L. Weissman // *Cell*. — 2004. — 116. — P. 639-648.
6. Wöllert K.C. Clinical Applications of Stem cells for the Heart / K.C. Wöllert, H. Drexler // *Circ. Res.* — 2005. — 96. — P. 151-163.
7. Гривенников И.А. Эмбриональные стволовые клетки / И.А. Гривенников, А.А. Шкуматов // *Проблемы репродукции*. — 2002. — № 3. — С. 16-25.
8. Lu X. Circulating endothelial progenitor cells in human / X. Lu, A. Chishti, B. Fulton // *Brit. J. Anaesth.* — 2001. — 87. — № 2. — P. 333-334.
9. Alto Palo. Embryo-derived stem cells: of mice and men / Palo Alto // *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. — 2001. — v. 17. — P. 435-462.
10. Holfilder M. Leukemic Stem Cells in Childhood High-Risk ALL/t (9;22) and t (4;11). Are Present in Primitive lymphoid-Restricted CD34+CD19- Cells / M. Holfilder, S. Rottgers, A. Rosemann // *Cancer Res.* — 2000. — 65 (4). — P. 1442-1449.
11. Darrell N. Lung stem cells / N. Darrell, Fine KottonoAlan // *Cell. Tissue. Res.* — 2008. — 331. — P.145-156.
12. Brody J.S. Pulmonary alveolar epithelial cell differentiation / J.S. Brody, M.C. Williams // *Annu. Rev. Physiol.* — 1992. — 54. — P. 351-371.
13. Brown L.M. Implications of post-pneumectomy compensatory lung growth in pulmonary physiology and disease / L.M. Brown, S.R. Rannels, D.E. Rannels // *Respir. Res.* — 2001. — 2. — P. 340-347.
14. Ali N.N. Derivation of type n alveolar epithelial cells from murine embryonic stem cells / N.N. Ali, A.J. Edgar, A. Samadikuchaksaraei, C.M. Timson // *Tissue. Eng.* — 2002. — 8. — P. 541-550.
15. Asakura A. Myogenic specification of side population cells in skeletal muscle / A. Asakura, P. Seale, A. Giris-Gabardo // *J. Cell. Biol.* — 2002. — 159. — P. 123-134.
16. Bailey A.S. Transplanted adult hematopoietic stems cells differentiate into functional endothelial cells / A.S. Bailey, S. Jiang, M. Atentoulis, C.I. Baumann // *Blood*. — 2004. — 103. — P. 13-19.
17. Beckett T. Acute lung injury with endotoxin or NO2 does not enhance development of airway epithelium from bone marrow / T. Beckett, R. Loi, R. Prenovitz, M. Poynter // *Mol. Ther.* — 2005. — 12. — P. 680-686.
18. Boers J.E. Number and proliferation of basal and parabasal cells in normal human airway epithelium / J.E. Boers, A.W. Ambergen, F.B. Thunnissen // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* — 1998. — 157. — P. 2000-2006.
19. Borthwick D.W. Evidence for stem-cell niches in the tracheal epithelium / D.W. Borthwick, M. Shahbazian, Q.T. Krantz // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* — 2001. — P. 662-670.
20. Breuer R. Cell kinetics of normal adult hamster bronchial epithelium in the steady state / R. Breuer, G. Zajicek, T.G. Christensen, E.C. Lucey // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* — 1990. — 2. — P. 51-58.
21. Otto W.R. Lung epithelial stem cells / W.R. Otto // *The Journal of Pathology*. 2002. — v. 197. — P. 527-535.
22. Evans M.J. Renewal of alveolar epithelium in the rat following exposure to NO2 / M.J. Evans, L.J. Cabral, R.J. Stepnens, G. Freeman // *Am. J. Pathol.* — 1973. — 70. — P. 175-198.
23. Wang D. A pure population of lung alveolar epithelial type II cells derived from human embryonic stem cells / D. Wang, D.L. Haviland, A.R. Bums // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 104. — P. 4449-4454.
24. Wang G. Adult stem cells from bone marrow stroma differentiate into airway epithelial cells: potential therapy for cystic fibrosis / G. Wang, B.A. Bunnell, R.G. Painter, B.C. Quiniones // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2005. — 102. — P. 186-191.
25. Ford J.R. Basal cells are the progenitors of primary tracheal epithelial cell cultures / J.R. Ford, M. Terzaghi-Howo // *Exp. Cell. Res.* — 1992. — 198. — P. 69-77.
26. Liu J.Y. Growth and differentiation of tracheal epithelial progenitor cells / J.Y. Liu, P. Nettesheim, S.H. Randell // *Am. J. Physiol.* — 1994. — 266. — P. 296-307.
27. Giangreco A. Terminal bronchioles harbor a unique airway stem cell population that localizes to the bronchoalveolar duct junction / A. Giangreco, S.D. Reynolds // *Am. J. Pathol.* — 2002. — 161. — P. 173-182.
28. Hong K.U. In vivo differentiation potential of tracheal basal cells: evidence for multipotent and unipotent subpopulations / K.U. Hong, S.D. Reynolds, S. Watkins // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* — 2003. — 286. — P. 643-649.
29. Hong K.U. Clara cell secretory protein-expressing cells of the airway neuroepithelial body microenvironment include a label-retaining subset and are critical for epithelial renewal after progenitor cell depletion / K.U. Hong, S.D. Reynolds, A. Giangreco // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* — 2001. — P. 671-681.
30. Kotton D.N. Failure of bone marrow to reconstitute lung epithelium / D.N. Kotton, R.C. Mulligan // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* — 2005. — 33. — P. 328-334.
31. Kramer J. Embryonic stem cell-derived chondrogenic differentiation in vitro: activation by BMP-2 and BMP-4 / J. Kramer, C. Hegert, K. Guan, A.M. Wobus [et al.] // *Mech. Dev.* — 2000. — 92. — P. 193-205.
32. Krause D.S. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell / D.S. Krause, N.D. Theise, O. Henegariu [et al.] // *Cell*. — 2001. — 105. — P. 369-377.
33. Kim C.F. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer / C.F. Kim, E.L. Jackson, A.E. Woolfenden // *Cell*. — 2005. — 121. — P. 823-835.
34. Gomperts B.N. Circulating progenitor epithelial cells traffic via CXCR4/CXCL12 in response to airway injury / B.N. Gomperts, J.A. Belperio, P.N. Rao // *J. Immunol.* — 2006. — 176. — P. 1916-1927.
35. Shigemura N. Autologous transplantation of adipose tissue-derived stromal cells ameliorates pulmonary emphysema / N. Shigemura, M. Okumura, S. Mizuno // *Am. J. Trans-plant.* — 2006. — 6. — P. 2592-2600.
36. Petersen B.E. Mouse A6-positive hepatic oval cells also express several hematopoietic stem cell markers / B.E. Petersen, B. Grossbard, H. Hatch // *Hepatology*. — 2003. — 37. — P. 632-640.
37. Oh H. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction / H. Oh, S.B. Bradfute, T.D. Gallardo [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — 100. — P. 12313-12318.
38. Welm B.E. Sca-1 (pos) cells in the mouse mammary gland represent an enriched progenitor cell population / B.E. Welm, S.B. Tepera, T. Venezia // *Dev. Biol.* — 2002. — 245. — P. 42-56.
39. Kotton D.N. Stem cell antigen-1 expression in the pulmonary vascular

- endothelium / D.N. Kotton, R.S. Summer, X. Sun // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* — 284. — P. 990-996.
40. Dong Q.G. A general strategy for isolation of endothelial cells from murine tissues. Characterization of two endothelial cell lines from the murine lung and subcutaneous sponge implants / Q.G. Dong, S. Bernasconi, S. Lostaglio // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* — 1997. — 17. — P. 1599-1604.
 41. De Palma M. Tie2 identifies a hematopoietic lineage of proangiogenic hematopoietic cells required for tumor vessel formation and a mesenchymal population of pericyte progenitors / M. De Palma, M.A. Venneri, R. Galli // *Cancer Cell.* — 2005. — 8. — P. 211-226.
 42. Davie N.J. Hypoxia-induced pulmonary artery adventitial remodeling and neovascularization: contribution of progenitor cells / N.J. Davie, J.T. Jr. Crossno, M.G. Frid // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* — 2004. — 286. — P. 668-678.
 43. Giangreco A. Molecular phenotype of airway side population cells / A. Giangreco, H. Shen, S.D. Reynolds, B.R. Stripp // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* — 2003. — P. 286. — P. 624-630.
 44. Hilbe W. CD133 positive endothelial progenitor cells contribute to the tumour vasculature in non-small cell lung cancer / W. Hilbe, S. Dirnhofer, F. Oberwasserlechner [et al.] // *J. Clin. Pathol.* — 2004. — 57. — P. 965-969.
 45. Perl A.K. Conditional gene expression in the respiratory epithelium of the mouse / A.K. Perl, J.W. Tichelaar, J.A. Whitsett // *Transgenic. Res.* — 2002. — 11. — P. 21-29.
 46. Rawlins E.L. Epithelial stem cells of the lung: privileged few or opportunities for many? / E.L. Rawlins, B.L. Hogan // *Development.* — 2006. — 133. — P. 2455-2465
 47. Rawlins E.L. Lung development and repair: contribution of the ciliated lineage / E.L. Rawlins, L.E. Ostrowski, S.H. Randell, B.L. Hogan // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* — 2007. — 104. — P. 410-417.
 48. Stripp B.R. Plasticity of airway cell proliferation and gene expression after acute naphthalene injury / B.R. Stripp, K. Maxson, R. Mera // *Am. J. Physiol.* — 1995. — 269. — P. 791-799.
 49. Veiss D.J. Adult stem cells, lung biology, and lung disease. NHLBI/Cystic Fibrosis Foundation Workshop / D.J. Veiss, M.A. Berberich, Z. Borok, D.B. Gail // *Proc. Am. Thorac. Soc.* — 2006. — 3. — P. 193-207.
 50. Zhao Y.D. Rescue of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension using bone marrow-derived endothelial-like progenitor cells: efficacy of combined cell and eNOS gene therapy in established disease / Y.D. Zhao, D.W. Courtman, Y. Deng, L. Kugathasan // *Circ. Res.* — 2005. — 96. — P. 442-450.
 51. Скоробогатова Е.В. Эффективность трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / Е.В. Скоробогатова, Д.Н. Балашов, З.М. Дышлева // *Дет. больница.* — 2008. — № 1. — С. 27-34.
 52. Малайцев В.В. Современные представления о биологии стволовой клетки / В.В. Малайцев, И.М. Богданова, Т.Т. Сухих // *Архив патологии.* — 2002. — т. 64. — № 4. — С. 7-11.
 53. Odorico J.S. / J.S. Odorico, D.S. Kaufman, J.A. Thomson // *Stem cells* — 2001. — v. 19. — P. 193-204.
 54. Bianco P. Mesenchimales / P. Bianco, M. Riminucci, S. Gronthos, P.G. Robey // *Stem cells* — 2001. — v. 19. — P. 180-192.
 55. Thompson G.B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease / G.B. Thompson // *Science.* — 1995. — v. 267. — P. 1456-1462.
 56. Holden R.J. The 53 paradox in the pathogenesis of tumor progression / R.J. Holden, P.A. Mooney // *Med. Hypotheses.* — 1999. — v. 52. — P. 483-485.
 57. Окулов В.Б. Адаптивные реакции клетки как основа прогрессии опухоли / В.Б. Окулов, С.Г. Зубова // *Вопр. онкологии.* — 2000. — 5. — С. 505-513.
 58. Ваганова И.Г. Апоптоз и пролиферация эпителиоцитов эктоцервикса у больных папилломавирусным и хламидийным цервицитом / И.Г. Ваганова // *Вопр. онкологии.* — 2000. — 5. — С. 578-582.
 59. Gottesman M.M. Resistance to multiple chemotherapeutic agents in human cancer cells / M.M. Gottesman, J.I. Pastan // *Trends Pharmacol. Science.* — 1988. — v. 9. — P. 54-58.
 60. Зубова С.Г. Ген MDR и чувствительность клеток к различным воздействиям / С.Г. Зубова, А.О. Данилов // *Вопр. онкологии.* — 2000. — т. 46. — С. 199-201.
 61. Meader A. Assays for transforming growth factor beta / A. Meader // *J. Immunol. Methods.* — 1991. — v. 141. — P. 1-14.
 62. Lobb R. Purification and characterization of endothelial cell growth factors / R. Lobb, J. Sasse, R. Sullivan [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 1986. — v. 261. — P. 1924-1928.
 63. Du Bois R.N. G 1 delay in cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2 / R.N. Du Bois, J.Y. Shao, M. Tsujii [et al.] // *Cancer. Res.* — 1996. — v. 56. — P. 733-737.
 64. Thorbecke G.J. Involvement of endogenous tumor necrosis alpha and transforming growth factor beta during induction of collagen type II / G.J. Thorbecke, R. Shah, C.H. Leu [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* — 1992. — v. 89. — P. 7375-7379.
 65. Tsuji M. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2 / M. Tsuji, R.N. Du Bois // *Cell.* — 1995. — v. 83. — P. 493-501.
 66. Абдулкадыров К.М. Получение и клиническое применение периферических гемопоэтических стволовых клеток из пуповинной крови / К.М. Абдулкадыров, Н.А. Романенко // *Вопр. онкологии.* — 2000. — 5. — С. 513-520.
 67. Балан Г.М. Сравнительная оценка стимулирующего действия свежей плацентарной крови, пиримидинов и пирогенов в терапии больных вибрационной болезнью / Г.М. Балан, Р.Г. Черкасская // *Материалы III съезда гигиенистов Казахстана. Алмата.* — 1980. — С. 60-68.
 68. Балан Г.М. Т- и В-система иммунитета и сравнительная оценка стимулирующего эффекта пуповинной крови и плацентарных препаратов при лечении хронических бронхитов / Г.М. Балан, Н.Ф. Гросс // *В кн.: "Достижения иммунологии в лечебно-профилактическую практику здравоохранения". Новокузнецк.* — 1981. — С. 3-14.
 69. Digiusto D.L. Hematopoietic potential of cryopreserved and ex vivo manipulated umbilical cord blood progenitor cells evaluated in vitro and in vivo / D.L. Digiusto, R. Lee, J. Moon [et al.] // *Blood.* — 1996. — v. 87. — P. 1261-1271.
 70. Cashman J. Sustained proliferation, multi lineage differentiation and maintenance of primitive human haemopoietic cells in NOD/SCID mice transplanted with human cord blood / J. Cashman, K. Bockhold, D.E. Hogge [et al.] // *Brit. J. Haematol.* — 1997. — v. 98. — P. 1026-1036.
 71. Piacibello W. Extensive amplification and self-renewal of human primitive hematopoietic stem cells from cord blood / W. Piacibello, F. Sanavio, L. Garetto [et al.] // *Ibid.* — 1997. — v. 89. — P. 2644-2653.
 72. Lazzari I. The Milan Cord Blood Bank and the Italian Cord Blood Network / I. Lazzari, C. Corsini, C. Curioni [et al.] // *J. Hematother.* — 1996. — v. 5. — P. 117-122.
 73. Querol S. The placental blood program of the Barcelona Cord Blood Bank / S. Querol, M. Gabarro, L. Amat [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* — 1998. — v. 22. (Suppl. 1). — P. 3-8.
 74. Rubinstein P. Outcome among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors / P. Rubinstein, C. Carrier, A. Scaradavou [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 1998. — v. 339. — P. 1565-1577.
 75. Hooper W.C. The role of transforming growth factor beta in hematopoiesis / W.C. Hooper // *A. Review Leuk. Res.* — 1991. — № 5. — P. 179-184.

76. Cavaillon J.M. Cytokines and macrophages / J.M. Cavaillon // *Biomed. Pharmacotherapy*. — 1994. — 48. — 10 — P. 445-459.
77. Nathan C.F. Secretory products of macrophages / C.F. Nathan // *J. Clin. Invest.* — 1987. — v. 79. — № 2. — P. 319-326.
78. Окулов В.Б. Актуальные проблемы иммунотерапии опухолей в контексте эволюционнозакрепленной реакции макрофага на повреждение тканей / В.Б. Окулов // *Вопр. онкологии*. — 1997. — т. 43. — № 1. — С. 102-108.
79. Аншина М.Б. ВРТ: прошлое, настоящее и будущее / М.Б. Аншина // *Проблемы репродукции*. — 2002. — 3. — С. 6-15.
80. Запорожан В.Н. Стволовые клетки / В.Н. Запорожан, Ю.И. Бажора. — Одесса: Одесский медуниверситет, 2004. — 227 с.
81. Виленчик М.М. Нестабильность ДНК и отдаленные последствия воздействия излучений / М.М. Виленчик. — М.: Энергоатомгудат, 1987. — 192 с.
82. Анисимов В.Н. Канцерогенез и онтогенез: основные направления и результаты исследований / В.Н. Анисимов // *Вопр. онкологии*. — 1997. — 43. — № 1. — С. 88-94.
83. Duffy M.J. Cellular oncogenes and suppressor genes as prognostic markers in cancer / M.J. Duffy // *Clin. Biochem.* — 1993. — vol. 26. — P. 439-447.
84. Bhogal Nirmala. The potential for using stem cell technology in toxicity testing / Nirmala Bhogal // *Altex*. — 2005. — 22. — P. 287-288.
85. Buzanska L. Human umbilical cord blood neural stem cell line — implementation for studying developmental neurotoxicity / L. Buzanska, J. Sypecka // *Altex*. — 2005. — 22. — P. 288-289.
86. Сотникова Н.В. Патогенетически обоснованный метод стимуляции регенерации печеночной ткани при CCl_4 -гепатите на основе модуляции функций эндогенных стволовых клеток / Н.В. Сотникова // *Авторыф. дисс. канд., Томск: НИИ фармакол. СО РАМН*. — 2007. — 20 с.
87. Olea Nicolas. Endocrine disruption / Nicolas Olea, Marieta Fernandez // *J. Epidemiol. and Community Health*. — 2007. — 61. — № 5. — P. 372-373.
88. Плисс Г.Б. Научные и практические аспекты изучения канцерогенности химических веществ / Г.Б. Плисс // *Вопр. онкологии*. — 1997. — 43. — № 1. — С. 107-110.
89. Худoley В.В. Мутагенез и канцерогенез / В.В. Худoley // *Природа*. — 1997. — № 2. — С. 15-19.
90. Faiola Brenda. Exposure of hematopoietic stem cells to benzene or 1,4-benzoquinone induces gender-specific gene expression / Brenda Faiola, Elizabeth Fuller // *Stem. Cells*. — 2004. — 22. — № 5. — P. 750-758.
91. Braydich-Stolle L. In vitro toxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells / L. Braydich-Stolle, Saber Hussain // *Toxicol. Sci.* — 2005. — 88. — № 2. — P. 412-419.
92. Ge Jun-hui. Weisheng yanjiu / Jun-hui Ge, Bing. Chang // *J. Hyg. Res.* — 2006. — 35. — № 5. — P. 24-28.
93. Залесский В.Н. Молекулярная эпидемиология: причинная связь генетических повреждений, генотоксических влияний экотоксикантов с повышенным риском возникновения рака легкого / В.Н. Залесский, О.Б. Дынник, А.А. Фильченков, Л.Н. Гуслицер // *Санит. врач.* — 2006. — № 10. — С. 32-39.
94. Шаненко Г.Ф. Биохимико-цитогенетические изменения в крови у людей, подвергшихся радиационному воздействию в малых дозах / Г.Ф. Шаненко, Е.Б. Бурлакова // *Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии: Труды 3 Международ. симпозиума под эгидой ЮНЕСКО, посвященного 100-летию со дня рождения Н.М. Сисякина*. Дубна — 2007. — С. 297-300.
95. Сусков И.И. Индивидуальные особенности трансгенерационной геномной нестабильности у детей ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (цитогенетические и иммуногенетические показатели) / И.И. Сусков, Н.С. Кузьмина // *Радиац. биол. Радиоэкол.* — 2008. — 48. — № 3. — С. 278-286.
96. Valadares Marize Campos. Bone marrow progenitor cells from chemically exposed workers display an intrinsic cells from chemically an intrinsic ability for autonomous proliferation / Campos Valadares Marize, Claudia Bincoletto // *Immunopharmacol. and Immunotoxicol.* — 2005. — 27. — № 1. — P. 135-137.
97. Rohatgi Nidhi. Novel molecular targets of smokeless tobacco in cell culture from oral hyperplasia / Nidhi Rohatgi, Ajay Matta, Jatinder Kaur // *Toxicology*. — 2006. — 224. — № 1-2. — P. 1-13.
98. Солодилова М.А. Гетерозиготное носительство мутантного аллеля 198 Leu гена глутатионпероксидазы-1 как фактор риска возникновения бронхиальной астмы при курении / М.А. Солодилова, В.П. Иванов, А.В. Полоников // *Терапевт. архив*. — 2007. — 79. — № 3. — С. 33-36.
99. Laparra Jose Moises. Cytotoxic effect of As (III) in Caco 2 cells and evaluation of its human intestinal permeability / Moises Laparra Jose, Dinoraz Velez. // *Toxicol. in vitro*. — 2006. — 20. — № 5. — P. 658-663.
100. Foucand L. Oxidative stress induction by short time exposure to ozone on THP-1 stem cells / L. Foucand, A. Bennasroune // *Toxicol. in vitro*. — 2006. — 20. — № 1. — P. 101-108.
101. Mankame T. Alteration of gene expression in human cells treated with the agricultural chemical diazinon: interaction in fetal development / T. Mankame, R. Hokanson, R. Fudge // *Hum. and Exp. Toxicol.* — 2006. — 25. — № 5. — P. 225-233.
102. Bai Juli. Expression of apoptosis-related genes in stem cells from rats exposed to sulfur dioxide / Juli Bai, Zigiang Meng // *Toxicology*. — 2005. — 216. — № 2-3. — P. 253-260.
103. LaBarge Mark A. Human mammary progenitor cell fate decisions are products of interactions with combinatorial microenvironments / A. LaBarge Mark, M. Nelson Celeste, Rene Villadsen // *Integr. Biol. Pharmacotherapy*. — 2009. — 1. — P. 70-79.
104. Bill C.A. Spontaneous and ultraviolet light-induced direct repeat recombination in mammalian cells frequently result in repeat deletion / C.A. Bill, J.A. Nickoloff // *Mutat. Res.* — 2001. — v. 1. — № 487. — P. 1-4.
105. Booth K. Gut instincts: thoughts on intestinal epithelial stem cells / K. Booth, C.S. Potten // *J. Clin. Invest.* — 2000. — 105 (11). — P. 1493-1499.
106. Likhacher A. Increased tumor incidence and skin tumour promotion in two generation of descendants of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene — treated pregnant mice / A. Likhacher, V. Anisimov // *IARC Sci. Publ.* — 1989. — № 96. — P. 81-92.
107. Киселев Ф.Л. Молекулярные основы канцерогенеза у человека / Ф.Л. Киселев, О.А. Павлиш, А.Г. Татосян — М.: Медицина, 1990. — 317 с.
108. Aitken R.J. Human spermatozoa: the future of sex / R.J. Aitken, J.A.M. Graves // *Nature*. — 2002. — v. 415. — P. 963-968.
109. Charlesworth B. The degeneration of Y chromosomes / B. Charlesworth, D. Charlesworth // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* — 2000. — v. 355. — P. 1563-1572.
110. Lahn B.T. The human Y chromosome, in the light of evolution / B.T. Lahn, N.M. Pearson, K. Jegalian // *Nature Reviews Genetics*. — 2002. — v. 415. — P. 963-968.
111. Boulanger Corinne A. Reducing mammary cancer risk through premature stem cell senescence / A. Boulanger Corinne, H. Smith Gibbert // *Oncogene*. — 2001. — 20. — P. 2264-2272.
112. Jacewicz M. Mammalian Cell Mitochondrial Toxicity. Screen / M. Jacewicz, R. Annand, J. Gibbert // *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* — 2000. — 41. — P.225-229.
113. Wicha Maks. BRCA 1 mutation linked to breast cancer stem cells / Maks Wicha, Suling Liu // *Cell Stem Cell*. — 2007. — v. 1. — 5. — P. 567-570.
114. Kcy Q. The role of stem cells in atherosclerosis / Q. Kcy // *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* — 2005. — 98 (6). — P. 672-676.

115. Zhang W. Escaping the stem cell compartment: Sustained UVB exposure allows p 53 — mutant keratinocytes to colonize adjacent epidermal proliferating units without incurring additional mutations / W. Zhang, E. Remenyik, D. Zelterman // PNAS. — 2001. — 20. — v. 98. — P. 13948-13953.
116. Matthias P.L. Perturbation on single hematopoietic stem cell fates in artificial niches / P.L. Matthias, D. Regis, H. Karen // Integr. Biol. — 2009. — 1. — P. 59-69.
117. Bensinger W. Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells / W. Bensinger, F. Appelbaum, S. Rowley // J. Clin. Oncol. — 1995. — v. 13. — P. 2547-2555.
118. Ginestier Christophe. New marker to identify cancer stem cells / Christophe Ginestier, Julie Dutcher // Cell Stem Cell. — 2007. — v. 1. — 5. — P. 555-567.
119. Ulrich S.E. Biochemical Modulation of Skin Reactions / S.E. Ulrich // CRC Boca Ration, FL. — 2000. — P. 281-300.
120. Мозжерова М.А. Особенности структуры дерматологической заболеваемости у детей и подростков, проживающих на антропогенно загрязненных территориях / М.А. Мозжерова // Вестн. последиплом. мед. образ. — 2007. — № 3-4. — С. 19-21.
121. Gerald G. Cells of the hepatic side population contribute to liver regeneration and can be replenished by bone marrow stem cells / G. Gerald, Luo Wulf-li, A. Kathy Jo // J. Haematol. — 2003. — v. 88 (04). — P. 368-379.
122. Yin L. Participation of different cell types in the restitutive response of the rat liver to periportal injury induced by allyl alcohol / L. Yin, D. Lynch, S. Sell // J. Hepatol. — 1999. — 31. — P. 497-507.
123. Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells / S. Sell // Hepatology — 2001. — 33. — P. 738-750.
124. Alison M.R. Liver stem cells: when the going gets tough they get going / M.R. Alison, M. Golding // Int. J. Exp. Pathol. — 1997. — 78. — P. 365-381.
125. Potten C.S. Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death / C.S. Potten // Soc. Lond B Biol Sci — 1998. — 353. — P. 821-830.
126. Braydich-Stolle L. In vitro toxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells / L. Braydich-Stolle, Saber Hussain // Toxicol. Sci — 2005. — 88. — № 2. — P. 412-419.
127. Zhang W. Escaping the stem cell compartment: Sustained UVB exposure allows p 53-mutant keratinocytes to colonize adjacent epidermal proliferating units without incurring additional mutations / W. Zhang, E. Remenyik // PNAS. — 2001. — v. 98. — P. 13948-13953.
128. Фильченков А.А. Апоптоз в патогенезе заболеваний человека / А.А. Фильченков, И.В. Абраменко — К: ДИА, 2001. — 324 с.
129. Залесский В.Н. Перспективы патогенетически обоснованного применения модуляторов апоптоза в качестве нейро-, кардио-, гепато- и нефроцитопротекторов / В.Н. Залесский, А.А. Фильченков // Современные проблемы токсикологии. — 2001. — № 4. — С. 64-70.
130. Иванов В.П. Мутагены окружающей среды и их влияние на генетический аппарат человека / В.П. Иванов, Е.В. Трубникова, А.Д. Саид, А.Н. Барков // Университетская наука: теория, практика, инновации: Сбор. трудов 73 Научной конференции Курского ГМУ и сессии Центрально-Черноземного научного центра РАМН. Курск. — 2008. — С. 414-420.
131. Sheridan Kathryn. The long and winding road / Kathryn Sheridan // Spec. Chem. Mag. — 2008. — 28. — № 6. — P. 32-33.
132. Beernaert H. Clinical aspects in implementing the OECD monograph "The application of the principles of GLP to in vitro studies" / H. Beernaert // Congr. ISTISAN. — 2008. — № 2. — P. 8-10.
133. Peters Annelieke K. Automated analysis of contractility in the embryonic stem cell test, a novel approach to assess embryotoxicity / K. Peters Annelieke, Gert Van de Wouwer // Toxicol. in vitro. — 2008. — 22. — № 8. — P. 1948-1956.
134. Ferguson Michael A. Biomarkers of nephrotoxic acute kidney injury / A. Ferguson Michael, S. Vaidya Vishal // Toxicology. — 2008. — 245. — № 3. — P. 182-193.
135. Malatesta M. Hepatoma tissue culture cells as a model for investigating the effects of low concentrations of herbicide on cell structure and function / M. Malatesta, F. Perdoni // Toxicol. in vitro. — 2008. — 22. — № 8. — P. 1853-1860.
136. Куликова Г.В. Влияние низкой концентрации свинца на плаценту и плод / Г.В. Куликова // Дис. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук. НИИ морфол. человека РАМН. — М. — 2008. — 27 с.
137. Chen Wangjun. Weisheng yanju / Wangjun Chen, Mei Wu, Zunzhen Zhang // J. Hyg. Res. — 2008. — 37. — № 4. — P. 417-420.
138. Komatsu Tomoko. The effects of nanoparticles on mouse testis Leydig cells in vitro / Tomoko Komatsu, Masako Tabata // Toxicol. in vitro. — 2008. — 22. — № 8. — P. 1825-1831.
139. Wang Xuan. Shoudu yike daxue huebao / Xuan Wang, Haitao Wu // J. Cap. Univ. Med. Sci. — 2007. — 28. — № 3. — P. 313-317.
140. Zuk P.A. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies / P.A. Zuk, M. Zhu // Tissue Eng. — 2001. — v. 7. — P. 211-218.
141. Петренко А.Ю. Стволовые клетки из жировой ткани / А.Ю. Петренко, Э.Н. Иванов, Ю.А. Петренко // Биотехнология. — 2008. — № 4. — С. 39-47.
142. Чепинога О.П. Опыт изучения отдаленных эффектов действия дитиокарбаматов / О.П. Чепинога // Труды VIII съезда гигиенистов Украинской ССР 15-16 декабря 1970 г. Киев — 1971. — С. 209-212.
143. Grim E.A. Cytokines: Biology and applications in cancer medicine / E.A. Grim, Ekmekciologlu Suhendan // In Holland Frei cancer Medicine. 6th ed. BCDecker Inc. — 2003.
144. Чернявская Т.З. Получение гемопоэтических стволовых клеток для трансплантации при злокачественных новообразованиях у взрослых / Т.З. Чернявская, К.Н. Мелкова, С.Н. Абдусаламов, М.Д. Алиев // Вестник РАМН — 2009. — 9. — С. 20 — 28.
145. Крутяков В.М. Мутагорная гипотеза канцерогенеза и супермутагены в противораковой терапии / В.М. Крутяков // Вестник РАМН — 2009. — 9. — С. 39 — 43.
146. Kamata Shiraishi F. Screening and detection of the in vitro agonistic activity of xenobiotics on the retinoic acid receptor / Shiraishi F. Kamata, J. Nishikawa // Toxicol. in vitro. — 2008. — 22. — № 4. — С. 1050-1061.
147. Tan Guo-he. Zhonghua laodong weisheng zhiyebing zazhi / Guo-he. Tan, Bo-ning Yang // Chin. j. Ind. Hyg. Occup. Diseases. — 2007. — 25. — № 5. — С. 282-285.
148. Beigel Juergen. Genomics and proteomics analysis of cultured primary rat hepatocytes / Juergen Beigel, Kerstin Fella // Toxicol. in vitro. — 2008. — 22. — № 1. — С. 171-181.
149. Adler Sarah. First steps in establishing a developmental toxicity test method based on human embryonic stem cells / Sarah Adler, C. Pellizzer, L. Hareng // Toxicol. in vitro. — 2008. — 22. — № 1. — С. 200-211.

ТОКСИЧНА ДІЯ КСЕНОБІОТИКІВ НА СТОВБУРІ КЛІТИНИ ЯК ЧИННИК РИЗИКУ РОЗВИТКУ ЗАГАЛЬНОСОМАТИЧНОЇ ТА ОНКОЛОГІЧНОЇ ПАТОЛОГІЇ

Узагальнені дані про розвиток молекулярно-генетичних порушень при токсичній дії ксенобіотиків у триваложивучих стовбурових клітинах (СК). Показано, що СК більш уразливі, вже при дії чинників малої інтенсивності в них відбуваються функціональні зрушення, передчасне старіння, формується нестабільність хромосом, ДНК і геному, наслідком чого є порушення репаративних процесів з переважанням гіпорегенераторних або проліферативних реакцій, а також підвищення ризику малігнізації. Представлена характеристика ембріональних і триваложивучих тканиноспецифічних СК, а також індукторів керованого диференціювання СК. Описані механізми формування адаптивних реакцій і порушень процесів відтворення СК при дії ушкоджуючих агентів, особлива увага приділена генетичному контролю експресії чинників зростання і апоптозу, а також ролі онкогенів, супресорних генів і стабілізаторів геному в диференціюванні СК. Узагальнені ефекти дії малих доз ушкоджуючих агентів на гетерогенну популяцію СК, відмічений ризик успадкування в них молекулярно-генетичних дефектів і наростання їх вираженості в потомстві. Показано, що поглиблений аналіз молекулярно-генетичних основ функціонування СК при дії хімічних чинників і встановлення кореляції між дозозалежною дією ксенобіотиків і біологічним потенціалом СК є пріоритетним напрямом токсикології.

Ключові слова: стовбурні клітини, уразливість, адаптація, ризик.

TOXIC INFLUENCE TO STEM CELLS AS THE RISK FACTOR OF SOMATIC AND ONCOLOGICAL PATHOLOGY

In this review we are summarising data according to molecular and genetic damages in stem cells (SC) under xenobiotic toxicity. It was shown that SC are very susceptibilities and action of low intensity factors is ability to alter there function, to induce premature ageing, chromosome, DNA, genome instability and as result - reparative derangements with hypo regenerations and proliferations prevalence and tumour risk increase. Summarising descriptions about embryonic stem cells and adult, tissue specific stem cells, mecanisms of their diferenciations, adaptive reactions and SC reproduction disrupt. Deep research on moleculargenetic base of stem cells functions continues to advance knowledge about how healthy cells replace damaged cells under different dose of different chemical factors. Stem cell research is one of the most priority areas of modern toxicology.

Key words: stem cells, vulnerability, adaptation, risk.

Надійшла до редакції 13.04.10