

Оригинальная статья опубликована в журнале “Цитология”, Т.50, № 6, 2008, стр. 511-520

Обзорная статья

ИММУННАЯ СИСТЕМА И РЕГЕНЕРАЦИЯ

***А.В.Печерский¹, В.И.Печерский²,
М.В.Асеев³, А.В.Дробленков⁴,
В.Ф.Семиглазов⁵***

¹Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург, Россия. ²Государственная академия физической культуры им.П.Ф.Лестгафта. ³НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН РФ, Санкт-Петербург, Россия. ⁴Главное Управление Здравоохранения Санкт-Петербурга «Бюро Судебно-медицинской экспертизы», Санкт-Петербург, Россия. ⁵НИИ онкологии им. профессора Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия.

электронный адрес: a_pechersky@msn.com

Статья-обзор посвящена роли плюрипотентных стволовых клеток и иммунной системы в обновлении тканей (регенерации). Коммитированные клетки-предшественники и дифференцированные клетки могут делиться ограниченное число раз (Alberts V. et al., 1994) и не в состоянии обеспечить регенерацию тканей на протяжении всего онтогенеза. Обновление тканей на протяжении такого длительного периода невозможно без участия специализированной системы, ответственной за регенерацию. Данная система представлена плюрипотентными стволовыми клетками, которые способны дифференцироваться во все типы соматических клеток и в линию половых клеток, а также обладают способностью к самообновлению на

протяжении всей жизни организма. Плюрипотентные стволовые клетки являются частью системы регенерации, сформированным в процессе эволюции.

К л ю ч е в ы е с л о в а: плюрипотентные стволовые клетки, регенерация, тестостерон, AR, bFGF, Ki67, bcl-2, p53

П р и н я т ы е с о к р а щ е н и я: ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота, метод ПЦР – метод полимеразной цепной реакции, PADAM - partial androgen deficiency of aging men (частичный возрастной андрогенный дефицит), AR-рецепторы андрогенов, IGF-I, IGF-II - инсулиноподобные факторы роста I и II, bFGF-основной фактор роста фибробластов, EGF-эпидермальный фактор роста, TGF- β - трансформирующий фактор роста β , Th - Т-хелперы, TNF α - фактор некроза опухолей α , IL-1 α - интерлейкин 1 α , IL-1 β - интерлейкин 1 β , IL-6 - интерлейкин 6, IL-7 - интерлейкин 7, INF γ – интерферон- γ ,

Введение

Обсуждение

Во взрослом организме из яйцеклетки и клеток зародыша млекопитающего (вплоть до 8-клеточной стадии) могут образовываться клетки любого типа. Активация яйцеклетки является этапом в реализации программы развития, постепенное развёртывание которой приводит к образованию новой особи. Программа развития представляет собой строго определённую очерёдность биологических процессов, при которой каждый последующий этап инициируется предыдущим. Любое вмешательство в данный процесс от начала мейоза оогоний и сперматогоний до формирования взрослой особи будет приводить к нарушению сформированного эволюцией механизма. Так, нарушение вышеуказанной

последовательности при введении ядра дифференцированной клетки в цитоплазму яйцеклетки после удаления её собственного ядра (при клонировании) делает невозможным развитие полноценной особи [0].

Последующие деления клеток зародыша млекопитающего (после 8-клеточной стадии) сопровождаются началом их дифференцировки. Параллельно с развитием различных органов и тканей формируются структуры, ответственные за обновление их состава. К числу данных структур можно отнести образование плюрипотентных стволовых клеток [0]. Плюрипотентные стволовые клетки образуются при реализации программы развития оплодотворённой яйцеклетки, являясь одним из направлений дифференцировки клеток зародыша (Alberts B. et al., 1994), [0].

У позвоночных большинство популяций дифференцированных клеток подвержены обновлению – они всё время погибают и замещаются новыми. В некоторых случаях новые дифференцированные клетки взрослого организма могут образовываться простым удвоением, при котором образуются две дочерние клетки того же типа (например, гепатоциты). В ряде тканей конечное состояние дифференцировки несовместимо с клеточным делением. Обновление клеток в таких тканях может происходить за счёт клеток камбиальной зоны (например, базальные клетки эпидермиса, сперматогонии). Камбиальные клетки представляют собой специализированные клетки-предшественницы, которые могут делиться, но уже проявляют начальные признаки дифференцировки. При делении они дают потомство, часть которого продолжает дифференцировку, а часть остаётся низкодифференцированным (Alberts B. et al., 1994), [0].

Коммитированные клетки-предшественники и дифференцированные клетки, вступив на путь дифференцировки или завершив его, могут делиться ограниченное число раз (Alberts B. et al., 1994) и не в состоянии обеспечить регенерацию ткани на протяжении всего онтогенеза. Обновление тканей на протяжении такого длительного периода невозможно без участия

специализированной системы, ответственной за регенерацию. Данная система представлена плюрипотентными стволовыми клетками, которые способны дифференцироваться во все типы соматических клеток и в линию половых клеток, а также обладают способностью к самообновлению на протяжении всей жизни организма (Alberts B. et al., 1994), [0]. Популяция плюрипотентных стволовых клеток неоднородна: при преимущественной локализации плюрипотентных стволовых клеток в костном мозгу, клетки с подобными характеристиками обнаруживаются по данным ряда авторов (Томас J.G. et al., 2001; Zuk P.A. et al., 2002; Тепляшин А.С. и др., 2005) и в других производных мезодермы: в жировой ткани, в мышцах, в сердце и в коже. Возможно, такая пространственная организация системы, позволяет ей наиболее эффективно обеспечивать процессы регенерации тканей, а также связана с возможностью взаимодополнения и взаимозамещения отдельных её составляющих [0].

Данная структура имеет характерные для системы механизмы саморегуляции. Число плюрипотентных стволовых клеток и камбиальных клеток-предшественников, а также их соотношение с дифференцированными клетками регулируется макроорганизмом. Соотношение данных клеток определяется конкретными задачами репарации. В пролиферативном состоянии клетка содержит набор молекул, которые позволяют ей пройти точку рестрикции. Эти «разрешающие деление молекулы», определяющие пролиферативное состояние клетки, быстро разрушаются в период отсутствия сыворотки и значительно дольше синтезируются заново после её добавления (Alberts B. et al., 1994). Данные факторы, обратимо управляющие пролиферацией и покоем, позволяют интегрировать клетку в целостный организм. Вне макроорганизма, без присутствия его постоянно меняющихся регуляторных факторов, плюрипотентные стволовые клетки подвержены гибели, что подтверждается значительными трудностями, возникающими при культивировании стволовых клеток “in vitro”. С данных позиций создание постоянных линий эмбриональных стволовых клеток, не

подверженных старению в культуре в отсутствие регулирующего влияния макроорганизма и утративших связь с ним, по-видимому, связано с определёнными генетическими изменениями, приближающими данные клетки к злокачественным. Применение таких клеток в клинической практике может сопровождаться повышением риска развития канцерогенеза. Более того, попытки получения плюрипотентных стволовых клеток из эмбриональных клеток, запрограммированных на выполнение программы развития, будут сопровождаться закономерным образованием тератом, что и подтверждается целым рядом исследователей (Alberts B. et al., 1994). Плюрипотентные стволовые клетки являются отдельной ветвью дифференцировки эмбриональных клеток, их формирование невозможно вне развивающегося эмбриона. Ввиду чрезвычайной сложности повторения последовательности действия регуляторных факторов программы развития любые попытки воспроизведения этих этапов «in vitro» для отдельно-взятых эмбриональных клеток представляются мало перспективными [0].

В отдельных случаях тератомы развиваются при культивировании сперматогоний при получении у них признаков стволовых клеток (Alberts B. et al., 1994; Крылова Т.А. и др., 2005). Спорадичность появления тератом, по-видимому, обусловлена трудностью изолированного выделения сперматогоний. Вероятно, состав культивируемых клеток гетерогенен и в нём нельзя исключить присутствия клеток, начавших мейотическое деление (сперматоцитов). Появление тератом свидетельствует о том, что программа развития запускается не с момента оплодотворения яйцеклетки, а с началом мейоза. Учитывая, что плюрипотентные стволовые клетки и сперматогонии представляют различные ветви дифференцировки клеток зародыша и предназначены для выполнения различных функций, получение полноценных стволовых клеток из сперматогоний маловероятно [0].

Базальная мембрана, подстилающая эпителиальный слой, не препятствует миграции через неё целого ряда клеток, включая макрофаги и клетки, обеспечивающие регенерацию. Клетки, сохраняющие связь с

базальной мембраной, сохраняют контакт с подлежащей соединительной тканью, осуществляющей контроль над дифференцировкой эпителиальных клеток (Alberts B. et al., 1994).

Учитывая, что в эксперименте диссоциированные клетки легче агрегируются с аналогичными клетками, плюрипотентные стволовые клетки, по-видимому, в большей степени будут агрегироваться с низкодифференцированными клетками-предшественниками камбиальной зоны, пополняя их состав. Последующая дифференцировка клеток камбиальной зоны будет способствовать замене старых клеток [0].

Вероятно, процесс дифференцировки стволовых клеток регламентируется программой развития: соответствующая её часть инициируется клеточным окружением при миграции стволовых клеток. Каждая клетка многоклеточного организма содержит определённый набор поверхностных рецепторов, дающий ей возможность специфическим образом реагировать на комплементарный набор сигнальных молекул, а также позволяющий ей связываться определённым образом с другими клетками и внеклеточным матриксом [0]. Данный набор рецепторов представляет «морфогенетический код», который определяет организацию клеток в тканях (Alberts B. et al., 1994). Строгая последовательность появления экспрессии рецепторов к клеточным ростовым факторам и, возможно, такая же строгая регламентация образования (аутокринно или паракринно) самих клеточных ростовых факторов на разных стадиях дифференцировки клеток подтверждает данный вывод [0]. Примером может служить, представленное в монографии Roitt I. et al. (2000), чередование экспрессии рецепторов к различным ростовым факторам при дифференцировке Т- и В-лимфоцитов.

Универсальность механизма регенерации, осуществляемого посредством плюрипотентных стволовых клеток, подтверждается постепенным замещением клеток реципиента клетками донора при трансфузии стволовых

клеток периферической крови. Через один год после трансфузии, при сравнении образцов крови пациента и его ближайшего родственника (матери) материал был признан неродственным. Более того, при несовпадении группы крови у донора и реципиента до трансплантации через 1 год после трансплантации у всех реципиентов определялась группа крови донора. Аналогичные данные были получены при исследовании быстро регенерирующего буккального эпителия. У обследованных больных через 1 год после трансплантации стволовых клеток периферической крови в составе буккального эпителия были выявлены два вида клеток, имеющих различный генотип. Доля клеток буккального эпителия, принадлежащих противоположному реципиенту полу (полу донора) составляла от 50% до 80%. В одном случае 100% клеток буккального эпителия имели генотип индивидуума не являющегося родственником матери реципиента [0].

Утверждение об универсальности механизма регенерации, осуществляемого посредством плюрипотентных стволовых клеток, подтверждают отдалённые результаты локального лучевого воздействия. Несмотря на атрофию камбиальных клеток процент необратимых поздних лучевых повреждений относительно небольшой. По данным В.М. Виноградова (2004) он не превышает 5%. Предотвратить необратимые изменения данной зоны может только восстановление её камбиальных зон за счёт миграции клеток, способных к соответствующей дифференцировке (стволовых клеток) [0].

Формирование и обновление тканей, осуществляемые путём миграции клеток, представляют собой более сложный механизм по сравнению с делением и удержанием в эпителиальном слое потомков клеток-основательниц. Формирование и обновление тканей, осуществляемые путём миграции клеток, широко распространены в природе, включая различные этапы онтогенеза человека [0]. Примером могут служить миксамёбы (*Dictyostelium discoideum*) – эукариотические организмы, живущие в виде отдельных подвижных клеток. При голодании миксамёбы вырабатывают

хемотаксические вещества, привлекающие другие клетки, и превращаются в центры агрегации. Агрегация клеток завершается образованием многоклеточного червеобразного существа – плазмодия в состав которого могут входить до 100 000 миксамёб. Необходимо отметить, что плазмодий, являющийся переходной формой от одноклеточных к многоклеточным организмам, представляет собой химерную особь, состоящую из клеток с различным геномом. Другим примером являются, клетки первичной мезенхимы земноводных, выходящие в полость бластулы и движущиеся вдоль её стенки, подтягиваясь на выпускаемых ими длинных тонких отростках – филоподиях. В зародышах позвоночных клетки нервного гребня мигрируют из эпителиальной (нервной) трубки и дифференцируются в ряд тканей, включая элементы периферической нервной системы. У ранних эмбрионов позвоночных все компоненты конечности (кроме эпидермиса) являются производными мигрирующих клеток. Прежде чем достигнуть места назначения и принять участие в формировании структур конечности эти клетки должны совершить длительное путешествие по эмбриональной соединительной ткани. В основе миграции клеток лежит образование химического агента, привлекающего мигрирующие клетки путём хемотаксиса и/или образование на поверхности клетки адгезивных молекул типа фибриноектина, обеспечивающих направленность миграции (Alberts B. et al., 1994).

Хемотаксические факторы играют определяющую роль в миграции стволовых клеток (Roitt I., et al., 2000). В основе хемотаксиса лежит перемещение подвижных клеток в сторону более высоких концентраций питательных субстратов, например сахаров и аминокислот. По-видимому, в многоклеточном организме упомянутые питательные субстраты, определяющие направленность движения одноклеточных организмов в состоянии голодания, приобретают роль сигнальных молекул хемотаксиса [0]. При образовании центра агрегации зона его влияния быстро расширяется, так как агрегирующиеся клетки не только отвечают на

хемотаксический сигнал, но и сами начинают выделять аналогичные вещества. Преимущество такой системы передачи хемотаксического сигнала состоит в том, что по мере распространения из центра сигнал постоянно возобновляется, не ослабевая на большом расстоянии, его концентрация при этом всё время меняется. В отличие от данной модели сигнал, распространяющийся только путём диффузии, постепенно ослабевает и носит постоянный характер. Клетки при своём передвижении улавливают пространственные градиенты различных веществ, воспринимая именно изменения концентрации хемоаттрактанта, а не его постоянную величину (Alberts B. et al., 1994). По данной причине многократная ретрансляция хемотаксического сигнала, сопровождаемая изменением его содержания в среде, представляется более эффективной [0].

Реакции естественного иммунитета инициируются рядом химических структур, в том числе концевыми сахарами мембранных гликопротеинов содержащих концевую маннозу. В норме концевые сахара блокированы сиаловой кислотой, которая защищает клетки от фагоцитоза макрофагами. У старых клеток вследствие десИАлирования клеточной поверхности нарушается защита концевых углеводных остатков мембранных гликоконъюгатов - на их поверхности появляется свободная манноза. Данные клетки становятся доступными для распознавания. При контакте макрофагов со старыми клетками происходит их активация и включение первой линии иммунной защиты – реакций естественного иммунитета. В их основе лежит филогенетически более древний процесс – воспаление (Ярилин А.А., 1999).

Элиминация макрофагами старых клеток может осуществляться как за счёт фагоцитоза, так и посредством внеклеточного киллинга – контактной индукции апоптоза и передачей в клетки-мишени токсического материала. Ключевым фактором клеточно-опосредованного цитолиза является белок-перфорин. Перфорин проникает в мембрану клеток-мишеней при участии Ca^{++} и формирует в ней поры для проникновения гранзимов, запускающих апоптоз. Некроз или апоптоз и последующий лизис клетки, сопровождаются

развитием демаркационного воспаления. Некротические процессы (некроз, апоптоз) происходят на протяжении всего онтогенеза как проявление нормальной жизнедеятельности организма. В организме постоянно происходят гибель и разрушение старых клеток с последующей регенерацией, что и обеспечивает нормальную его жизнедеятельность (Струков А.И., Серов В.В., 1993; Ярилин А.А., 1999).

Продукты инкреции макрофагов, активированных Т-клеток, а также эпителиальных и эндотелиальных клеток, клеток стромы кроветворных и лимфоидных органов очень важны для регуляции развития воспаления и последующего замещения погибших клеток молодыми клетками. Особое значение имеет инкреция клеточных факторов роста, колониестимулирующих и хемотаксических факторов, а также интерлейкинов (Ярилин А.А., 1999).

Клеточные ростовые факторы, образуемые в специфической комбинации при некрозе (или апоптозе), обеспечивают пролиферацию и дифференцировку клеток-предшественников ростовых зон и мигрировавших стволовых клеток для восстановления дефекта ткани (Ярилин А.А., 1999). Специфичность регуляции дифференцировки, осуществляемой клеточным окружением, заключается в строгой последовательности местного образования клеточных ростовых факторов и такой же строгой регламентации последовательности экспрессии их рецепторов, определённых соответствующей частью программы развития. Инкреция клеточных ростовых факторов продолжается до полного восстановления повреждённой ткани [0]. К наиболее известным клеточным факторам роста, регулирующим пролиферацию и дифференцировку клеток, относятся эпидермальный фактор роста (EGF), основной фактор роста фибробластов (FGFb), инсулиноподобные факторы роста I и II (IGF-I, IGF-II), трансформирующий фактор роста- β (TGF β) и другие (Alberts B. et al., 1994).

Колониестимулирующие факторы служат мощными стимуляторами кроветворения, в том числе повышающими пролиферацию плюрипотентных

стволовых клеток костного мозга с их ускоренным переходом в кровоток, а хемотаксические факторы обеспечивают их направленную миграцию для регенерации повреждённого участка ткани (Ярилин А.А., 1999).

Активированные макрофаги и моноциты в области воспаления среди прочего выделяют IL-1 (α и β формы), фактор некроза опухолей- α (TNF α). Фактор некроза опухолей- α не только вызывает апоптоз клеток, но и способен активировать в клетках-мишенях липопротеиновую липазу, что может приводить к кахексии. В условиях воспаления эндотелиальные клетки выделяют IL-7, вызывающий экспрессию гена bcl-2. Экспрессия генов, повышающих устойчивость клеток к гибели по механизму апоптоза, позволяет клеткам сохраниться в условиях воздействия, высокоактивных продуктов, образующихся при воспалении (Ярилин А.А., 1999).

Молекулы главного комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex) - МНС I класса связывают и представляют на поверхности клетки пептидные фрагменты эндогенных белков. Формирование комплексов антигенных пептидов с молекулой МНС I класса является непрерывно протекающим процессом. Из презентуемых пептидов 90% являются общими для большинства различных клеток организма (ввиду множества общих для всех клеток биохимических процессов и, соответственно, большого числа общих одинаковых белков (Alberts B. et al., 1994)) и 10% отличаются между ними (Ярилин А.А., 1999). По-видимому, большинство из отличающихся друг от друга пептидов различных клеток отражают ткане- и клеточноспецифичную информацию [0].

Основная часть указанных пептидов происходит из сигнальных участков белков и самих молекул МНС I класса. Регулируя состав представляемых антигенов при процессинге в эндосомах, клетка определяет характер взаимодействия с другими клетками, несущими комплементарные рецепторы. Данный механизм способствует интеграции каждой отдельно взятой клетки в целостный организм. Закономерно, что ряд хемоаттрактантов, являющихся молекулами МНС I класса и обладающих ткане- и

клеточноспецифичными свойствами, обеспечивают направленную миграцию стволовых клеток в строго определённые ткани, например, по данным I. Roitt, et al. (2000), в тимус.

Направленная миграция плюрипотентных стволовых клеток невозможна без образования специфических хеморецепторов. Их появлению должны предшествовать ряд промежуточных этапов. Первоначально необходимо связывание и доставка тканеспецифических антигенов в лимфатические узлы или иные лимфоидные органы антигенпредставляющими клетками. Данный этап обусловлен появлением при десалировании у старых и интенсивно пролиферирующих клеток гликопротеинов, содержащих концевую маннозу. Антигенпредставляющие клетки осуществляют эндоцитоз антигенов. В эндосомах или лизосомах происходит расщепление белков до более мелких фрагментов (цельная молекула белка без процессинга вспомогательными клетками не может быть распознана Т-лимфоцитом). Эндосомы, содержащие пептидные антигены, сливаются с эндосомами, содержащими молекулы МНС II класса. В составе мембран эндосом сформировавшиеся тримерные комплексы молекул МНС II класса и антигенных пептидов выносятся на поверхность клеток [0]. При процессинге антигена антигенпредставляющие клетки утрачивают способность связывать новые антигены; на их поверхности появляется экспрессия вспомогательных молекул CD 80/86, участвующих в представлении антигенного пептида Т-хелперам (Ярилин А.А., 1999).

Во вторичных лимфоидных органах лимфоциты прикрепляются к эндотелиальным клеткам посткапиллярных венул, протискиваются между эндотелиальными клетками и попадают через лимфатический узел в лимфатические сосуды (Alberts B. et al., 1994). Такая постоянная циркуляция обеспечивает встречу лимфоцитов с антигенпредставляющими клетками, а также при их посредничестве позволяет обеспечить контакты Т-хелперов с Т-киллерами и с плюрипотентными стволовыми клетками с формированием у них соответствующих рецепторов (Ярилин А.А., 1999) [0].

Число постоянно гибнущих собственных клеток значительно превосходит количество микроорганизмов, проникающих во внутреннюю среду организма. Примечательно, что молекулы МНС II класса преимущественно образуют комплексы с аутологичными пептидами (продуктами МНС I класса и другими белками): 90% из них являются общими для большинства различных клеток организма, 10% - отличаются между собой и только 1% из числа последних составляют чужеродные антигены. Презентация 99% аутологичных пептидов молекулами МНС II класса (Alberts B. et al., 1994) свидетельствует о последующем формировании значительной доли комплементарных рецепторов именно к аутоантигенам [0].

Связывание Т-хелпера с комплексом антиген - молекула МНС II класса антиген-представляющей клетки при участии вспомогательных молекул приводит к активации Т-хелпера. Основой Т-клеточного распознавания является иммунодоминантность – зависимость активации рецепторов Т-хелперов от сродства антигенного пептида молекуле МНС II класса (степени отличия антигена от собственных молекул организма). Через этот механизм реализуется Ig-I генный контроль характера и интенсивности иммунного ответа на антигены. Преобладание аутоантигенов при образовании комплексов с молекулами МНС II класса свидетельствует о том, что Т-хелперам чаще приходится заниматься распознаванием «изменённого своего» и значительно реже (в 1% случаев) распознаванием «чужого» (Ярилин А.А., 1999).

Распознавание Т-хелперами «изменённого своего» может приводить к активированию не только Т-киллеров, но и плюрипотентных стволовых клеток (с образованием специфичных рецепторов для антигенов, презентуемых молекулами МНС I класса) для одновременной (с уничтожением изменённых клеток) репарации повреждённого участка ткани. Вид активируемых клеток определяется степенью отличия презентуемого антигена от собственных молекул [0].

Активация плюрипотентных стволовых клеток с образованием комплементарных рецепторов также осуществляется через посредничество антигенпредставляющих клеток. Вероятность встречи Т-хелперов и плюрипотентных стволовых клеток (при их постоянной циркуляции через вторичные лимфоидные органы) с антигенпредставляющими клетками значительно выше, по сравнению с возможностью возникновения контакта между ними самими. По аналогии с процессом активации цитотоксических Т-клеток, следующим этапом является оказание Т-хелперами (через Т-клеточный рецептор и молекулу МНС II класса с презентуемым антигеном при участии вспомогательных молекул и интерферона- γ) активирующего действия на антигенпредставляющие клетки. Активированные антигенпредставляющие клетки через молекулу МНС II класса с антигеном (по аналогии с взаимодействием с Т-клеточным рецептором цитотоксической Т-клетки) получают возможность связаться с плюрипотентными стволовыми клетками с последующим образованием тканеспецифических рецепторов на их поверхности. При этом цитотоксические клетки или плюрипотентные стволовые клетки приобретают вспомогательные молекулы адгезии и межклеточного взаимодействия (экспрессию молекул адгезии CD 2, CD 58, интегриновые рецепторы ICAM-1 и другие), обеспечивающих установление прочного контакта с клетками-мишенями [0]. Появление тканеспецифичных «хоминг-рецепторов» определяет пути миграции лимфоцитов (Ярилин А.А., 1999) и стволовых клеток [0] к местам воспаления, включая места гибели старых клеток. Т-супрессоры (T_s) могут регулировать данные процессы. Основными клетками-мишенями Т-супрессоров являются Т-хелперы (Ярилин А.А., 1999).

Активирование Т-хелперами (при посредничестве антигенпредставляющих клеток) цитотоксических Т-клеток сопровождается паракринным и аутокринным образованием ИЛ-2. Среди прочих функций, ИЛ-2 способен предохранять активированные клетки от апоптоза. Соответственно, у активированных Т-киллеров появляется экспрессия гена

bcl-2 и некоторых других аналогичных генов. Параллельно, у Т-киллеров появляется экспрессия Fas-рецептора, через контакт которого с уничтожаемой клеткой передаётся сигнал, индуцирующий апоптоз (Ярилин А.А., 1999).

Все перечисленные изменения в экспрессии мембранных молекул характерны для формирующихся Т-клеток памяти, представляющих собой разновидность эффекторных Т-клеток. Баланс экспрессии Bcl-2 и экспрессии Fas-рецептора определяет судьбу клеток: быструю гибель эффекторных клеток после выполнения функций или продолжительный срок жизни клеток памяти. Существенно, что для поддержания экспрессии гена bcl-2 клеткам требуется повторный контакт со специфическим антигеном. Например, Т-клетки памяти быстро гибнут в среде, не содержащей соответствующий антиген (Ярилин А.А., 1999).

Экспрессия гена bcl-2 также позволяет предотвратить развитие апоптоза у мигрирующих в область регенерации после опосредованного антигенпредставляющими клетками контакта с Т-хелперами стволовых клеток. Дополнительное усиление экспрессии гена bcl-2 у коммитированных стволовых клеток происходит при их миграции между эндотелиальными клетками, продуцирующими IL-7, в межклеточное пространство. Экспрессия гена bcl-2 позволяет высокочувствительным к неблагоприятным условиям среды стволовым клеткам выжить в условиях воздействия высокоактивных продуктов (активные формы азота и кислорода, TNF α , INF γ и другие), образующихся, в частности, при гибели старых клеток и развитии сопутствующего воспаления [0].

В соответствии с теорией клональной селекции (Alberts B. et al., 1994) каждая стволовая клетка, коммитированная к выработке одного определённого антиген-специфического хеморецептора, должна образовывать семейство или клон клеток, имеющих одинаковую антигенную специфичность, аналогично клеткам иммунологической памяти. Для плюрипотентных стволовых клеток это шаг к унипотенции [0].

При применении препаратов, приготовленных из различных тканей животных, у человека присутствует хотя бы несколько клонов стволовых клеток, несущих комплементарные рецепторы к общим антигенам тканеспецифичных пептидов ксеногенных препаратов. Связывание антигена с рецептором приводит к интенсивной пролиферации соответствующего клона стволовых клеток. Направленная миграция стволовых клеток в ткани, клетки которых содержат комплементарные их рецепторам тканеспецифичные пептиды в комплексе с молекулами МНС I класса, будет способствовать стимуляции регенерации данных тканей [0]. Так, в опыте на крысах с перекрёстным кровообращением повреждение печени у одной из них приводит к стимуляции процессов регенерации печени у обеих животных (Alberts V. et al., 1994); целый ряд широко применяемых препаратов из различных тканей животных (печени, предстательной железы, хряща, роговицы и других) стимулирует регенерацию соответствующих тканей у человека (Машковский М.Д., 2002).

Образование хемоаттрактантов, в числе которых выступают антигены МНС I класса, и формирование у плюрипотентных стволовых клеток комплементарных им рецепторов (через представление аутоантигенов молекулами МНС II класса), представляется наиболее подходящим объяснением направленной миграции плюрипотентных стволовых клеток к определённым клеткам и тканям [0].

Участие плюрипотентных стволовых клеток и возможное посредничество антиген-представляющих клеток, Т-хелперов/Т-супрессоров в комплексе с молекулами МНС I класса/II класса позволяют считать, что именно иммунная система ответственна за регенерацию тканей организма. Значительное преобладание аутоантигенов (99%) среди пептидов, представляемых молекулами МНС II класса, а также существенное преобладание субпопуляции CD4⁺-лимфоцитов (хелперов) над CD8⁺-киллерами в крови и в лимфе показывает, что участие в процессах

регенерации является важнейшей (а может быть и ведущей) функцией иммунной системы [0].

Замещение погибших старых клеток молодыми клетками постоянно происходит во всех тканях, интенсивность этого процесса различна. Например, скорость обновления костной ткани составляет около 10% в год, скорость обновления тканей сердца и тонкой кишки значительно выше (Alberts B. et al., 1994).

Заселение тимуса стволовыми клетками необходимо не только для последующего образования Т-клеток, но и для формирования кортико-медуллярной структуры тимуса, включая клетки эпителиального ретикулула, в онтогенезе (Ярилин А.А., 1999). Эпителиально-ретикулярные клетки тимуса составляют микроокружение развивающихся тимоцитов и служат источниками сигналов, генерируемых при прямых клеточных контактах. В основе этих контактов лежит взаимодействие молекул МНС II класса эпителиально-ретикулярных клеток и Т-клеток, а так же участие вспомогательных молекул. Молекулы МНС II класса играют ведущую роль у эпителиально-ретикулярных клеток в процессе положительной селекции тимоцитов, а у макрофагов и дендритных клеток в отрицательной селекции тимоцитов (Ярилин А.А., 1999). В процессе данных контактов клетки микроокружения тимуса передают Т-лимфоцитам информацию об антигенах собственных тканей (Ярилин А.А., 1999), а также формируют у них тип ответных реакций на презентуемые антигены [0]. Последнее имеет большое значение для отличия антигенов пораженной вирусом клетки или чужеродной ткани (с активацией преимущественно Т-киллеров) от аутоантигенов погибших старых клеток (с последующей активацией плюрипотентных стволовых клеток с образованием у них тканеспецифичных рецепторов для направленной миграции и восстановления тканей) [0].

Постоянное обновление собственных клеток тимуса за счёт стволовых клеток с последующей передачей информации от новообразованных клеток микроокружения тимуса Т-лимфоцитам и их последующая селекция

позволяет постоянно обновлять данные о новых собственных антигенах у Т-лимфоцитов. Ввиду эволюции генома – его постепенного усложнения и совершенствования вследствие разнообразных генетических рекомбинаций (Alberts B. et al., 1994) (и, соответственно, изменений в составе аутоантигенов), данный механизм обеспечивает на протяжении онтогенеза соответствующие синхронные изменения иммунной системы, а также позволяет сохранить единство происходящих изменений для большинства тканей организма (за счёт их одновременного обновления клетками с новыми характеристиками) [0].

При трансфузии аллогенных плюрипотентных стволовых клеток в составе моноклеарной фракции периферической крови эпителиальные клетки микроокружения тимуса будут формироваться, в том числе, и из донорских стволовых клеток. Соответственно, в процессе обучения Т-лимфоциты дополнительно начнут воспринимать в качестве «своих» антигены донора [0]. Данная закономерность определяет развитие иммунологической толерантности [0], развивающейся по данным ряда авторов (Alberts B. et al., 1994), при трансплантации тканей или органов после предварительного переливания крови от единого донора, а также после предварительной трансплантации клеток зародыша в эксперименте.

Трансфузия крови, стволовых клеток (или трансплантация костного мозга, клеток зародыша) приводит к формированию химерной особи. Данная особь обладает двумя типами плюрипотентных стволовых клеток с двумя различными генотипами. Последующая миграция стволовых клеток двух видов в тимус и обновление его собственных клеток микроокружения приводит к формированию Т-лимфоцитов, воспринимающих антигены собственного организма и антигены донора как «свои». Отсутствие реакции отторжения у пациентов через 1 год после трансфузии стволовых клеток периферической крови на клетки буккального эпителия, в 50% - 100% случаев имеющие генотип донора, подтверждает данное заключение.

Теоретически, химерному реципиенту могут быть пересажены от исходного донора любые ткани или органы без риска последующего отторжения [0].

Представление о бессмертии плюрипотентной стволовой клетки – её способности к неограниченному числу делений является в определённой степени условным. Пролиферативное поведение клеток на протяжении онтогенеза управляется долговременными внутриклеточными программами. Взаимоотношения между долговременными и кратковременными механизмами контроля определяются программой развития, реализуемой через клеточные факторы роста, колониестимулирующие факторы, продукты, образованные при экспрессии протоонкогенов и другие факторы [0]. Так, различное сочетание колониестимулирующих факторов определяет скорость клеточного деления и число делений плюрипотентной стволовой клетки перед началом дифференцировки. Вероятность перехода в состояние покоя (G_0) увеличивается с числом клеточных делений. У многоклеточных организмов клетки многих типов переходят в состояние G_0 в результате окончательной дифференцировки, теряя способность делиться независимо от внешних стимулов (Alberts B. Et al., 1994). С возрастом количество клеток, которые по данным маркирования могут быть отнесены к плюрипотентным стволовым клеткам, постепенно уменьшается (Тепляшин А.С. и др., 2005). Пул плюрипотентных стволовых клеток у людей начинает сокращаться примерно с 35 лет. Наличие долговременных внутриклеточных программ свидетельствует в пользу того, что программа развития не только приводит к формированию взрослой особи, но и определяет её развитие на протяжении всего онтогенеза [0].

Для поддержания нормального состояния в организме каждую секунду должно образовываться несколько миллионов новых клеток (Alberts B. et al., 1994). Одновременно каждую секунду происходит некроз (или апоптоз) такого же количества старых клеток приводящий к множеству локальных участков воспаления. У лиц старше 35-40 лет некротизированные старые клетки не возмещаются адекватным количеством низкодифференцированных

клеток-предшественников (или стволовых клеток), что делает невозможным завершение процесса регенерации. Учитывая, что плотность клеточной популяции прямо пропорциональна концентрации факторов роста в среде, у данной категории лиц компенсаторно увеличивается образование клеточных ростовых факторов (для стимуляции пролиферации низкодифференцированных клеток камбиальных зон) и увеличивается образование колониестимулирующих факторов (для стимуляции пролиферации плюрипотентных стволовых клеток). Соответственно у лиц старше 35-40 лет отмечается повышение экспрессии факторов пролиферации (Ki67 и др.) в большинстве тканей (Печерский А.В. и др., 2005), а также повышение доли коммитированных форм стволовых клеток костного мозга (Тепляшин А.С. и др., 2005).

Повышенная продукция клеточных ростовых факторов у людей старше 40 лет не приводит к образованию адекватного количества клеток-предшественников, обеспечивающих замену погибших старых клеток. Более того, с возрастом количество клеток камбиальных зон только уменьшается. Соответственно, данная стимуляция с увеличением возраста усиливается и становится постоянной [0].

Данные изменения, закономерно, сопровождаются развитием постоянно-повышенной экспрессии генов соответствующих ростовых факторов и их рецепторов (Alberts B. et al., 1994). Компенсаторная трансформация протоонкогенов в онкогены при длительном отсутствии эффекта на регулирующий сигнал, является частным примером общей закономерности реагирования организма в подобных условиях [0]. Так, при наличии в течение длительного периода стеноза почечной артерии происходит гипертрофия клеток юстагломерулярного аппарата (с увеличением в них количества инкретирующих гранул), сопровождаемая максимальным нерегулируемым образованием ренина. О сопутствующих генетических изменениях свидетельствует сохранение высокой

интенсивности продукции ренина трансформированными клетками после устранения стеноза (Тареева И.Е., 1995).

Постоянно-повышенные уровни клеточных ростовых факторов (стимулирующих пролиферацию камбиальных клеток), могут приводить к метаплазии (а в последующем и к малигнизации) [0].

Увеличение дефицита плюрипотентных стволовых клеток и соответствующее уменьшение числа камбиальных клеток тканей у лиц старше 35-40 лет сопровождается повышением интенсивности образования клеточных ростовых факторов и развитием экспрессии всё большего числа онкогенов, приводящих к появлению новых, в большей степени изменённых, недифференцированных камбиальных клеток. Ввиду масштабности вышеуказанных изменений, развивающихся в подавляющем числе тканей, с возрастом риск канцерогенеза повышается. В данных условиях развитие злокачественной опухоли - предопределённый процесс. Конкретная локализация опухоли и время её появления будут определяться отдельными иницирующими факторами и особенностями индивидуума [0] [0].

Изменения эндотелия в области воспаления сопровождаются внутри- и внесосудистым свёртыванием фибриногена и образованием тромбоцитарного тромба. На поверхности активированного эндотелия, тромбоцитов и лейкоцитов экспрессируются и адгезируют факторы свёртывания, приводящие к образованию фибрина (Alberts В. et al., 1994; Серов В.В., Пауков В.С., 1995). Ввиду незавершённости процесса регенерации при некрозе старых клеток и наличия сопутствующих локальных участков воспаления в подавляющем числе тканей у лиц старше 40 лет с возрастом риск тромбообразования повышается [0].

Активирование Т-хелперами злокачественных клеток с образованием тканеспецифичных рецепторов на их поверхности (комплементарных специфичным антигенам молекул МНС I класса старых и погибших клеток) [0] [0] сопровождается началом распознавания их как «своих» при одновременном (с помощью Т-супрессоров) подавлении ответа

цитотоксических клеток на опухолевые антигены. Данные процессы могут приводить к развитию несостоятельности иммунного ответа при опухолях. Преобладание гибели старых клеток над процессами регенерации в большинстве тканей лиц старше 35 – 40 лет, и соответствующее появление тканеспецифичных хемоаттрактантов (в качестве которых выступают молекулы МНС I класса) определяют потенциальные области метастазирования. В соответствии с теорией клональной селекции каждая злокачественная клетка, коммитированная к выработке одного определённого антиген-специфического хеморецептора, должна образовывать семейство или клон клеток, имеющих одинаковую антигенную специфичность [0].

При повреждении клеточные факторы роста, действуя в различных комбинациях, избирательно регулируют пролиферацию и дифференцировку каждого из многочисленных типов клеток высших животных (Alberts B. et al., 1994). В условиях недостаточности количества плюрипотентных стволовых клеток и, соответственно, камбиальных клеток в области некроза (или апоптоза) и невозможности завершения регенерации данного участка ткани уровни клеточных ростовых факторов будут возрастать, вызывая интенсивную пролиферацию фибробластов. В данных условиях количество фибробластов будет значительно преобладать над количеством камбиальных клеток, приводя к образованию рубца [0]. У лиц старше 40 лет вследствие нарушения процесса регенерации наблюдается достоверное снижение толщины сосочкового и сетчатого слоёв дермы, уменьшение размеров волосяных фолликулов, среднего количества камбиальных эпителиальных клеток матрикса волосяной луковицы и эндотелиальных клеток кровеносных капилляров. Ввиду интенсивной стимуляции клеточными ростовыми факторами среднее количество фибробластов у лиц старше 40 лет повышается, а часть волосяных фолликулов замещается рубцовой тканью [0].

Системность происходящих у лиц старше 40 лет изменений подтверждается развитием атрофии и фиброзных изменений в других тканях

и органах. В частности у мужчин отмечается атрофия яичек, проявляющаяся в развитии фиброза базальной мембраны канальцев, уменьшением количества клеток Лейдига и другими изменениями. Атрофия развивается и в других эндокринных органах, например, отмечается уменьшение размеров гипофиза (Дедов И.И., Калинин С.Ю., 2006). Изменения стареющей почки выражаются в снижении её массы и объёма, прогрессировании накопления соединительнотканых компонентов. После 40 лет в течение каждого последующего десятилетия происходит склерозирование около 10% нефронов (1% в год) (Тареева И.Е., 1995). Примерно одинаковая скорость снижения численности пула плюрипотентных стволовых клеток с возрастом определяет одинаковую интенсивность склерозирования большинства тканей у людей старших возрастных групп [0]. Данным значениям интенсивности склерозирования тканей соответствует скорость снижения уровня общего тестостерона у стареющих мужчин, составляющая в среднем 1 % в год [0] [0].

Возрастная инволюция тимуса сопровождается снижением его массы, а также замещением эпителиального компартмента соединительной тканью и производными фибробластов - адипоцитами. После 50-60 лет отмечается снижение количества в крови и в органах Т-клеток (в большей степени Т-хелперов). Возрастное снижение Т-хелперов может негативно отразиться на формировании тканеспецифичных рецепторов плюрипотентных стволовых клеток и, соответственно, на процессе регенерации. Среди популяций тимоцитов наиболее сильно убывает численность незрелых кортикальных $CD4^+CD8^+$. Тем не менее, в тимус продолжают постоянно поступать костномозговые предшественники, и из тимуса продолжают эмигрировать зрелые Т-клетки, хотя интенсивность этого процесса снижается (Ярилин А.А., 1999). Возрастное снижение плюрипотентных стволовых клеток негативно сказывается не только на заселении тимуса лимфоидными элементами, но и на формировании кортико-медуллярной структуры тимуса, включая клетки эпителиального ретикулума [0].

Обновление нервной ткани имеет ряд особенностей. В отличие от нейронов, которые после дифференцировки делиться не могут, большая часть глиальных клеток сохраняют эту способность на протяжении всей жизни (Alberts B. et al., 1994). Как дифференцированные клетки они имеют ограниченное число делений и, соответственно, нуждаются в пополнении своего состава на протяжении онтогенеза. Возрастное снижение плюрипотентных стволовых клеток приводит к нарушению процесса обновления данных клеток с активизацией макрофагов (микроглии), приводя к развитию ряда неврологических и психических заболеваний [0].

Во время эмбрионального развития незрелые нейроны, не образовавшие аксона и дендритов, мигрируют из места своего рождения по радиальным глиальным клеткам. В коре головного мозга нейроны располагаются слоями в соответствии с последовательностью их миграции. Клетки, образовавшиеся позднее, мигрируют дальше клеток, образовавшихся раньше. Радиальные глиальные клетки направляют миграцию нейронов и сохраняются в большинстве областей головного и спинного мозга до конца периода развития. После закладки основных нервных структур они исчезают и в зрелой нервной системе почти нигде не определяются (Alberts B. et al., 1994).

Масса и объём головного мозга у человека после рождения до окончательного формирования увеличивается в несколько раз. В частности толщина коры к моменту рождения составляет всего 20% от толщины коры окончательно сформированного головного мозга (Клоссовский Б.Н. и др., 1977). Постнатальное развитие центральной нервной системы также связано с миграцией стволовых клеток. В целях обновления структур центральной нервной системы миграция стволовых клеток сохраняется на протяжении всего онтогенеза. Фрагменты погибших нейронов (несущие, в частности, специфичные для определённой клетки молекулы МНС I типа) становятся хемоаттрактантами, позволяющими мигрировавшим и начавшим дифференцировку стволовым клеткам восстановить прежние связи погибших

нейронов. Принимая во внимание общность злокачественных и плюрипотентных стволовых клеток косвенным подтверждением обновления структур центральной нервной системы за счёт миграции стволовых клеток служит метастазирование в головной мозг злокачественных опухолей других локализаций [0].

Необходимо отметить, что возрастные изменения головного мозга во многом аналогичны возрастным изменениям других органов. Старческое (предстарческое) слабоумие связано с прогрессирующей атрофией мозга. Заболевание обусловлено церебральным амилоидозом, выявляемым в 100% случаев. Заболевание часто сопровождается атеросклерозом и диабетом II типа, в значительной степени инициируемых возрастным снижением продукции половых гормонов (Печерский А.В. и др., 2003; Печерский А.В. и др., 2006) [0]. Как и в вышеописанных примерах возрастных изменений ведущая роль в патогенезе амилоидоза принадлежит активации макрофагов, которые в свою очередь активируют целый ряд клеток, включая фибробласты и эндотелиоциты. Активация перечисленных клеток сопровождается продукцией белка фибрилл амилоида. Рассасывание амилоида (амилоидоклазия) встречается крайне редко (ввиду отсутствия методов, способных вызвать обратное развитие процессов, которые привели к заболеванию) при локальных формах амилоидоза и обусловлено фагоцитарной активностью макрофагов (Струков А.И., Серов В.В., 1993).

Уменьшение интенсивности процессов обновления тканей эндокринных органов, негативно отражается на их функции. Наблюдается снижение уровня ряда инкретируемых гормонов (тестостерона, соматотропного гормона и других) [0]. Снижение продукции тестостерона приводит к появлению так называемого частичного возрастного андрогенного дефицита (PADAM) и в значительной степени инициирует развитие метаболического синдрома (X – синдрома) (Печерский А.В. и др., 2003; Печерский А.В. и др., 2006) [0]. В тоже время высокие компенсаторные возможности центральной нервной системы обеспечивают сохранение стереотипных реакций его

структур. Так увеличение уровня соматотропного гормона при повышении образования эстрогенов (Lavin, 1999), сохраняется у лиц старших возрастных групп, несмотря на уменьшение размеров гипофиза. После проведения орхиэктомии у мужчин по поводу рака предстательной железы сопутствующее повышение эстрона сопровождается увеличением уровня соматотропного гормона (Печерский А.В. и др., 2003).

Возрастное снижение продукции тестостерона оказывает существенное влияние на факторы внеклеточной среды, регулирующие клеточное старение. У клеток нормальных мышечных эмбрионов (способных в соответствующих условиях делиться без признаков старения) при добавлении сыворотки крови пожилой особи развивается апоптоз (Alberts B. Et al., 1994). Одними из ведущих индукторов апоптоза являются глюкокортикоиды и фактор некроза опухоли- α (TNF α), (Ярилин А.А., 1999); их уровни повышаются при PADAM (Печерский А.В. и др., 2003; Печерский А.В. и др., 2006).

Ca^{++} принимает участие в активации фагоцитирующих клеток, в перфорин-зависимом механизме цитолиза, в образовании оксида азота (в значительной степени определяющего бактерицидную активность фагоцитов). Mg^{++} участвует в альтернативной активации компонента (Ярилин А.А., 1999). Повышение уровней Ca^{++} и Mg^{++} в сыворотке крови у больных с PADAM можно рассматривать как составную часть ответа иммунной системы на повышение пролиферативной активности (Печерский А.В. и др., 2003; Печерский А.В. и др., 2006) и увеличение числа старых клеток [0].

Ca^{++} и Mg^{++} принимают участие в дифференцировке клеток и пространственной организации тканей, влияя на механизмы межклеточной адгезии (Alberts B. Et al., 1994). Данные функции имеют большое значение в условиях повышенной стимуляции клеток камбиальных зон у людей старших возрастных групп [0].

PADAM нарушает развитие клеток, имеющих андрогенные рецепторы.

При частичном возрастном андрогеном дефиците нарушения развития андрогензависимых клеток, морфологически проявляются атрофией данных клеток (Лопаткин Н.А., 1998; Ryde C.M. et al., 1992; Sporn M.B., 1996; Берштейн Л.М., 2000; Печерский А.В. и др., 2005). Андрогенные рецепторы выявляются в коже теменной области у мужчин (в эпидермисе, в дерме (у фибробластов), в волосяном фолликуле и в потовых железах). У лиц старше 40 лет выявляются изменения в развитии андрогензависимых тканей и отдельных клеток: уменьшение толщины сосочкового и сетчатого слоёв дермы, среднего количества камбиальных эпителиальных клеток матрикса волосяной луковицы, размеров волосяных фолликулов и большей части фибробластов сосочка волоса, появление деформированных и гиперхромных ядер у фибробластов (свидетельствующие о дегенеративных изменениях клеток). У мужчин старше 40 лет также меньше включений меланина в андроген-зависимых клетках базального слоя. Полученные данные позволяют утверждать, что возрастное уменьшение пула плюрипотентных стволовых клеток и последующие снижение образования половых гормонов являются основными причинами развития возрастных изменений кожи, а также алопеции и седины [0].

Стволовые клетки периферической крови у мужчин имеют андрогенные рецепторы и, соответственно, являются андроген-зависимыми. Возрастное снижение продукции половых гормонов негативно сказывается на развитии и пролиферации зависимых от их уровня плюрипотентных стволовых клеток, что является дополнительным негативным фактором, способствующим уменьшению их количества. Последующее нарушение регенерации тканей гонад (яичек у мужчин с уменьшением клеток Лейдига, инкретирующих тестостерон) свидетельствует о формировании порочного круга с феноменом взаимного отягощения [0].

Рецепторный аппарат, воспринимающий сигнал, и инкретирующие, клетки и ткани представляют единую взаимозависимую систему (Kettyle W.M., Arky R.A., 2001). Появление новых рецепторов на поверхности клеток

или ядер клеток происходит непрерывно. При отсутствии лиганда или при снижении его содержания время полужизни соответствующего рецептора увеличивается (Alberts B. et al., 1994). Закономерно, у мужчин старше 40 лет по сравнению с контрольной группой молодых мужчин выявляется увеличение экспрессии андрогенных рецепторов эпидермиса, дермы (фибробластов), волосяных фолликулов и потовых желёз, подтверждающие наличие у них андрогенного дефицита [0]. Повышение экспрессии андрогенных рецепторов дополняет эффект компенсаторного увеличения уровней 5 α -дигидротестостерона и эстрогенов, наблюдаемые при снижении уровня тестостерона (Pechersky A.V. et al., 2002; Печерский А.В. и др., 2003).

Фибробласты принимают участие в формировании специализированной архитектоники соединительной ткани, соответствующей её локальным функциям. За счёт деятельности фибробластов образуется межклеточный матрикс, содержащий коллаген I типа и III типа. Изменение структуры межклеточного матрикса нарушает процессы передачи сигнала, дифференцировки и миграции клеток [0].

Сделанные выводы подтверждаются течением ряда известных заболеваний. Сокращение числа делений клеток у больных с синдромом преждевременного старения - синдромом Вернера, выявляемое при культивировании, по-видимому, приводит к недостаточности камбиальных и плюрипотентных стволовых клеток. В ответ на отсутствие образования адекватного количества плюрипотентных стволовых клеток для восполнения некротизированных старых клеток, компенсаторно, увеличивается образование целого ряда клеточных факторов роста, включая фактор роста фибробластов. Показательно, что фибробласты, взятые у больных с синдромом Вернера, оказываются нечувствительны к фактору роста фибробластов и некоторым другим ростовым факторам (Alberts B. Et al., 1994). Ввиду того, что десенситизация соответствующих рецепторов клеток-мишеней развивается при длительном воздействии соответствующего

стимула, десенситизация рецепторов фактора роста фибробластов является следствием повышения его уровня в течение длительного периода [0].

Принимая во внимание то, что при хемотаксисе клетки реагируют не на постоянную величину, а на изменение концентрации хемоаттрактанта в среде (Alberts B. Et al., 1994), постоянно-повышенные уровни хемотаксических факторов в месте некроза (или апоптоза) старых клеток приводят к десенситизации соответствующих рецепторов стволовых клеток, препятствуя их поступлению в данную область [0].

Соответственно у больных с синдромом Вернера нарушения регенерации тканей носят системный характер. Атрофические изменения ряда эндокринных желёз, сопровождаются развитием их недостаточности (гипогонадизмом и другой патологией). Гипогонадизм способствует развитию остеопороза (Печерский А.В. и др., 2006), а атрофия хрящевой ткани приводит к развитию артритов. В результате у больных наблюдается ограничение подвижности суставов. Повышение промоторных факторов канцерогенеза, гормональный дисбаланс сопровождаются высоким риском развития онкологических заболеваний. Снижение количества камбиальных клеток волосяных фолликулов, усугубляется гипогонадизмом. Уменьшение образования тестостерона негативно отражается на развитии андроген-зависимых клеток кожи, включая клетки волосяных фолликулов. Нарушается синтез пигмента клетками волосяных луковиц. У больных появляются преждевременное поседение и диффузная алопеция. Атрофические изменения кожи являются характерным проявлением данного синдрома. Недостаточность стероидных гормонов сопровождается повышением образования их предшественника – холестерина. Активизация факторов клеточного иммунитета в ответ на повышение митотической активности способствует прогрессированию атеросклероза (Печерский А.В. и др., 2006). Данные патологические процессы характерны для клинического течения синдрома Вернера (Кряжева С.С., 1976).

Избирательное поражение Т-хелперов при СПИДе препятствует образованию специфических рецепторов у плюрипотентных стволовых клеток. Информация антиген-представляющих клеток, несущих комплекс антиген (в том числе пептиды погибших клеток) - молекула МНС II класса не считывается и не преобразуется в соответствующий рецептор плюрипотентных стволовых клеток к хемоаттрактанту, представленному компонентами молекул МНС I класса. В данных условиях большая часть плюрипотентных стволовых клеток, не имея тканеспецифичных рецепторов, остаётся не востребованной и в последующем погибает. Аналогично лицам старших возрастных групп у больных СПИДом нарушается процесс пополнения клеточного состава камбиальных зон, что вносит дополнительный негативный вклад в развитие истощения, деменции и опухолей [0].

Восстановление пула плюрипотентных стволовых клеток у лиц старше 40-50 лет будет способствовать достаточному их поступлению в камбиальные зоны с последующим возмещением старых некротизированных клеток адекватным количеством коммитированных клеток. За этим последует обратное развитие описанных выше патологических процессов [0].

Для обеспечения непрерывно происходящего процесса обновления тканей у лиц старших возрастных групп требуется постоянное поддержание нормальной численности пула плюрипотентных стволовых клеток. Культивирование собственных плюрипотентных стволовых клеток пациента с последующей их трансфузией мало перспективно. При данном способе переливаемые клетки не обладают пролиферативным преимуществом перед остальными плюрипотентными стволовыми клетками пациента (они все соответствуют одному и тому же возрастному этапу программы развития). Использование данного метода ограничивается сложностью выполнения (затрудняющее его многократное применение), а также временным характером увеличения количества плюрипотентных стволовых клеток

периферической крови после трансфузии. Культивирование стволовых клеток на средах, содержащих клеточные ростовые факторы, сопровождается риском их злокачественного перерождения [0].

Использование фармакологических препаратов колониестимулирующих факторов, а также препаратов, стимулирующих образование колониестимулирующих факторов макрофагами (препараты, содержащие микробные липополисахариды, аутогемотерапия, включая применение банок, и другие способы) отдельными курсами не сможет обеспечить постоянства нормальной численности пула плюрипотентных стволовых клеток. Постоянное назначение данной терапии приведёт к истощению пула плюрипотентных стволовых клеток, что потребует увеличения дозы применяемых препаратов в процессе терапии. На определённом этапе данная терапия станет неэффективной. Более того, плюрипотентные стволовые клетки у лиц старших возрастных групп постоянно испытывают повышенную стимуляцию за счёт избыточного образования макрофагами колониестимулирующих факторов [0].

Также малоперспективным представляется искусственная трансформация клеток (относящихся к другим направлениям дифференцировки) в плюрипотентные стволовые клетки. Данные клетки образуются, минуя многостадийный путь дифференцировки от клеток зародыша до плюрипотентных стволовых клеток, строго определённой программой развития. По данной причине они не могут быть полноценной альтернативой плюрипотентным стволовым клеткам. Более того, их применение может увеличить риск развития онкологических заболеваний [0].

Обновление погибших старых эпителиально-ретикулярных клеток тимуса, осуществляющих обучение Т-лимфоцитов, перелитыми аллогенными стволовыми клетками с последующим восприятием их тканеспецифичных антигенов иммунной системой реципиента как «своё», позволяет считать трансфузию аллогенных плюрипотентных стволовых клеток в составе моноклеарной фракции периферической крови наиболее

перспективным способом поддержания нормальной численности пула плюрипотентных стволовых клеток у лиц старше 45-50 лет. После трансплантации плюрипотентные стволовые клетки образуют свой пул, который принимает участие в обновлении подавляющего числа тканей организма. Индивидуум становится химерой [0] [0].

Необходимо отметить, что химеризм широко распространён в живой природе: благодаря химеризму стало возможным возникновение многоклеточных организмов путём объединения одноклеточных форм. Захват эукариотической клеткой прокариотической клетки привёл к появлению митохондрий – органелл эукариотических клеток, имеющих свою собственную ДНК (Alberts B. et al., 1994). Возникновение резус-конфликта при рождении Rh^+ ребёнка у Rh^- матери (Roitt I., et al., 2000) свидетельствует о попадании клеток крови ребёнка, включая плюрипотентные стволовые клетки, в кровь матери при родах, что приводит к химеризму матери [0].

Ввиду распространённости химеризма в естественных условиях, искусственное формирование химерной особи может быть использовано для решения целого ряда практических задач, стоящих перед медициной.

Эффективность трансфузии аллогенных плюрипотентных стволовых клеток в составе моноклеарной фракции периферической крови лицам старше 45-50 лет будет зависеть от разницы между возрастом донора и возрастом реципиента. В данном случае принципиальное значение имеет этап долгосрочной внутриклеточной программы, на котором находятся клетки донора и клетки реципиента. Наличие долгосрочных внутриклеточных программ плюрипотентных стволовых клеток, определяющих их пролиферативный потенциал (их способность поддерживать необходимую численность собственного пула), существенно отличает плюрипотентные стволовые клетки лиц молодого возраста от соответствующих клеток лиц старших возрастных групп [0].

Для трансфузии плюрипотентных стволовых клеток могут использоваться стволовые клетки периферической крови в составе

мононуклеарной фракции периферической крови или костный мозг. Учитывая развитие в последующем иммунологической толерантности трансфузия данных сред может быть выполнена многократно до получения нормализации численности пула плюрипотентных стволовых клеток [0].

С данных позиций трансфузия донорской пуповинной крови, в клетках которой подавлена экспрессия всех обычных антигенов МНС I класса, за исключением HLA-G (что позволяет предотвратить опасность отторжения плаценты и плода, обладающих генами отца) (Roitt I. et al., 2000), даёт мало преимуществ. Более того, количество пуповинной крови одного донора, как правило, недостаточно для формирования необходимого по численности пула плюрипотентных стволовых клеток у реципиента. Проведение последующих трансфузий пуповинной крови от данного лица не представляется возможным ввиду этических и юридических ограничений, связанных с его возрастом [0].

Участие перелитых плюрипотентных стволовых клеток в обновлении подавляющего числа тканей организма, включая ткани эндокринных органов, требует учёта целого ряда дополнительных факторов.

Различия, связанные с полом и группами крови появились на ранних этапах эволюции. Формирование всех регуляторных систем организма человека в процессе филогенеза происходило с учётом данных факторов. Так, антигены системы OAB присутствуют не только на эритроцитах, но и на многих других клетках человека, а также экспрессируются большим числом микроорганизмов. Антигены системы OAB локализованы в углеводной части гликопротеинов. Структура этих углеводов, как и углеводов, определяющих близкую систему групп крови – Льюис, зависит от экспрессии генов, определяющих активность ферментов, транспортирующих терминальные сахара при синтезе олигосахаридных молекул (Roitt I., et al., 2000). По этой причине трансфузия плюрипотентных стволовых клеток в составе стволовых клеток периферической крови или костного мозга должна осуществляться

реципиенту от молодого донора 18-23 лет одного пола и одних групп крови [0] [0].

Нарушение процесса обновления эндокринных органов приводит к развитию гормонального дисбаланса, оказывающего существенное влияние на факторы внеклеточной среды, регулирующие клеточное старение. Для повышения эффективности трансплантации плюрипотентных стволовых клеток пациенты нуждаются в соответствующей коррекции. В частности, при возрастном снижении продукции тестостерона у мужчин, приводящего к увеличению уровней таких индукторов апоптоза, как глюкокортикоиды, фактор некроза опухоли α (TNF- α), активные формы кислорода и азота (Печерский А.В. и др., 2003; Печерский А.В. и др., 2006), показано предварительное назначение пациентам андроген-заместительной терапии [0].

Уменьшение процента замещенных клеток у пациентов с развившейся реакцией «трансплантат против хозяина» по сравнению с данными других представленных пациентов без зарегистрированных осложнений свидетельствует о негативном влиянии реакций несовместимости на процесс обновления тканей стволовыми клетками. По аналогии с синдромом Вернера, нарушение процесса обновления тканей может иметь ряд осложнений, включая развитие катаракты [0].

Формирование химерного индивидуума через трансфузию ему стволовых клеток периферической крови в составе моноклеарной фракции периферической крови или костного мозга с последующим развитием у него иммунологической толерантности позволит пересаживать ему любые ткани или органы от первичного донора [0].

Предотвратить отторжение пересаженных органов или тканей можно ещё одним способом. После трансплантации какого-либо аллогенного (или, теоретически, ксеногенного) органа начинается постепенное замещение донорских клеток стволовыми клетками реципиента с последующей их дифференцировкой. Соединительная ткань донорского органа осуществляет

направление дифференцировки поступающих стволовых клеток. После удаления паренхиматозных клеток донорского органа или ткани протеолитическими ферментами и пересадки оставшейся стромальной основы реципиенту будет происходить восстановление структуры ткани за счёт миграции стволовых клеток реципиента. При пересадке стромальной основы паренхиматозных органов необходимо подключение их сосудов к кровотоку для достаточного поступления стволовых клеток. Представленная концепция более простая по сравнению с попытками выращивания тканей “in vitro” [0].

Ускорению процесса замещения клеток донорского органа стволовыми клетками реципиента будет способствовать проведение курсов с использованием препаратов колониестимулирующих факторов. Для улучшения миграции стволовых клеток перспективно использование препаратов гиалуроновой кислоты [0]. Гиалуроновая кислота представляет одну из групп гликосаминогликанов. Притягивая воду, и тем самым, вызывая набухание межклеточного матрикса, гиалуроновая кислота облегчает миграцию клеток, способствуя регенерации (Alberts B. et al., 1994).

Перспективным способом лечения больных с различными наследственными заболеваниями, включая синдром Вернера, могла бы стать трансфузия им стволовых клеток периферической крови в составе моноклеарной фракции периферической крови от здоровых доноров одного с реципиентами пола, имеющих одинаковые с ними группы крови [0].

Тропность возбудителей инфекционных болезней в значительной степени определяется наличием у клеток-мишеней соответствующих рецепторов. Мутации данных рецепторов, наблюдающиеся у определённой части популяции, определяют устойчивость к инфицированию. Так, мутация гена, кодирующего рецептор CCR5, обозначаемая как $\Delta 32$, приводит у гомозигот к устойчивости к инфицированию вирусом иммунодефицита человека (HIV). Мутантный аллель CCR5 $\Delta 32$ у лиц европеоидной расы встречается в 12% - 18% в гетерозиготном состоянии и в 1% в гомозиготном

состоянии (Белозеров Е.С., Буланьков Ю.И., 2006). Трансфузия плюрипотентных стволовых клеток в составе моноклеарной фракции периферической крови от устойчивых к инфицированию лиц больным людям приведёт к появлению у них клеток, включая Т-хелперы, и тканей, невосприимчивых к соответствующему возбудителю [0].

Таким образом, плюрипотентные стволовые клетки являются частью системы регенерации, сформированной в процессе эволюции. Возрастное снижение количества плюрипотентных стволовых клеток нарушает процессы обновления тканей, включая ткани эндокринных органов. Развивающийся гормональный дисбаланс усугубляет происходящие изменения. Взаимное отягощение развивающихся патологических процессов приводит к формированию порочного круга. Соответственно, у людей старше 40 лет повышается риск развития онкологических заболеваний, прогрессируют атрофические и склеротические процессы в подавляющем числе тканей, нарастают деструктивные изменения соединительной ткани (с уменьшением её прочностных характеристик). Перспективным способом обратного развития данных патологических процессов может стать трансфузия аллогенных плюрипотентных стволовых клеток в составе моноклеарной фракции периферической крови от молодых доноров 18-23 лет, имеющих одинаковые с реципиентами группы крови и пол.

Таб. 1. Клинические примеры пациентов через 1 год после трансплантации стволовых клеток периферической крови, осуществлённой после предварительного проведённого кондиционирования

Пациент	Диагноз	Вид трансплантата	Группа крови донора	Группа крови реципиента до трансплантации	Группа крови реципиента после трансплантации	Сравнение крови пациента и крови его матери по генетическим показателям	Генетическое исследование буккального соскоба пациента	Течение послетрансплантационного периода
Б., женщина	Хр. миелолейкоз	Стволовые клетки периферической	A(II) Rh (+)	B (III) Rh (+)	A(II) Rh (+)	Родство исключено	Смесь образцов: 50% мужского и 50%	Осложнений нет

		крови					женского	
Х., мужчина	Хр. миелолейкоз	Стволовые клетки периферической крови	O(I) Rh (+)	AB(IV) Rh(+)	O(I) Rh (+)	Родство исключено	Образец: 100% мужской При сравнении с кровью матери – родство исключено	Осложнений нет
Б., мужчина	Острый миелобластный лейкоз	Стволовые клетки периферической крови	A(II) Rh (+)	B (III) Rh (+)	A(II) Rh (+)	Родство исключено	Смесь образцов: 75% мужского и 25% женского	Осложнений нет
М., женщина	Острый миелобластный лейкоз	Стволовые клетки периферической крови	AB(IV) Rh(+)	AB(IV) Rh(+)	AB(IV) Rh(+)	Родство исключено	Смесь образцов: 80% женского и 20% мужского	Реакция «Трансплантат-против хозяина»
Б., женщина	Острый миелобластный лейкоз	Стволовые клетки периферической крови	O(I) Rh (+)	O(I) Rh (-)	O(I) Rh (+)	Родство исключено	Смесь образцов: 80% мужского и 20% женского	Осложнений нет
М., женщина	Миелодиспластический синдром	Стволовые клетки периферической крови	A(II) Rh (+)	O(I) Rh (+)	A(II) Rh (+)	Родство исключено	Смесь образцов: 50% мужского и 50% женского	Осложнений нет
Ш., женщина	Хр. миелолейкоз	Стволовые клетки периферической крови	A(II) Rh (+)	A(II) Rh (+)	A(II) Rh (+)	Родство исключено	Смесь образцов: 50% мужского и 50% женского	Осложнений нет

Список литературы

Белозеров Е.С., Буланьков Ю.И. 2006. ВИЧ инфекция. Элиста: АПП «Джангар». 224 с.

Берштейн Л.М. 2000. Гормональный канцерогенез. СПб.: Наука. 200 с.

Винградов В.М. 2004. Радиобиологические основы возникновения лучевых повреждений и их классификация; под ред. Моисеенко В.М., Урманчевой А.Ф., Хансона К.П. СПб.: Издательство Н-Л. 704 с.

- Дедов И.И., Калинин С.Ю. 2006.* Возрастной андрогенный дефицит у мужчин. М.: Практическая медицина. 240 с.
- Васильев Ю. М. 1997.* Социальное поведение нормальных клеток и антисоциальное поведение опухолевых клеток. Сорос, образовательный журнал. 4: 17-22.
- Зазеров В.Г., Северин Е.С. 1998.* Молекулярные механизмы онкогенеза предстательной железы. Вестник РАМН. 5: 29-35.
- Клосовский Б.Н., Кононова Е.П., Филимонов И.Н. и др. 1977.* Головной мозг. Большая медицинская энциклопедия. М.: Советская энциклопедия. Т. 6. 632 с.
- Константинова М.М.. 2004.* Принципы и методы оценки эффективности лекарственной терапии и качества жизни больных злокачественными опухолями; под ред. В.М. Моисеенко, А.Ф. Урманчевой, К.П. Хансона. СПб.: Издательство Н-Л. 704 с.
- Крылова Т.А., Зенин В.В., Михайлова Н.А. и др. 2005.* Постоянные линии эмбриональных стволовых клеток человека. Цитология. 47(2): 121-129.
- Кряжева С.С. 1976.* Вернера синдром. Большая медицинская энциклопедия. М.: Советская энциклопедия. Т. 4. 576 с.
- Лопаткин Н.А. 1998.* Руководство по урологии. М.: Медицина. Т. 3. 672 с.
- Машковский М.Д., 2002.* Лекарственные средства. М.: Новая волна. Т. 2. 608 с.
- Меркулов Г.А. 1961.* Курс патологогистологической техники. Л.: МедГиз. 346 с.
- Моисеенко В.М., Урманчева А.Ф., Хансон К.П. 2004.* Лекции по фундаментальной и клинической онкологии. СПб.: Издательство Н-Л. 704 с.
- Напалков Н.П. 1989.* Общая онкология. Л.: Медицина. 647 с.
- Печерский А.В., Семиглазов В.Ф., Лоран В.Ф. и др. 2003.* Изменение уровня цитокинов у пациентов с раком предстательной железы после орхидэктомии. TERRA MEDICA nova, специальный выпуск «Лабораторная диагностика». 2: 26-30.

- Печерский А.В., Семиглазов В.Ф., Комяков Б.К. и др. 2005.* Изменение экспрессии рецепторов стероидных гормонов при развитии частичного возрастного андрогенного дефицита (PADAM). *Цитология.* 47(4): 311-317.
- Печерский А.В., Семиглазов В.Ф., Мазуров В.И. и др. 2006.* Влияние частичного возрастного андрогенного дефицита на развитие метаболического синдрома. *Лабораторная диагностика.* 4: 12-19.
- Пушкарёв Д.Ю. 2004.* Радикальная простатэктомия. - М.: Медпресс-информ, 168 с.
- Серов В.В., Пауков В.С. 1995.* Воспаление. М.: Медицина. 640 с.
- Струков А.И., Серов В.В. 1993.* Патологическая анатомия. М.: Медицина. 688 с.
- Тареева И.Е. 1995.* Нефрология. М.: Медицина. (1). 496 с.
- Тепляшин А.С., Коржикова С.В., Шарифуллина С.З. и др. 2005.* Характеристика мезенхимальных стволовых клеток человека, выделенных из костного мозга и жировой ткани. *Цитология.* 47(2): 130-135.
- Эттингер А.П., Ступин В.А., Нестеренко Ю.А. и др. 2006.* Состояние соединительной ткани у пациентов с послеоперационными вентральными грыжами. *Герниология.* 2006; 3(11): 51.
- Ярилин А.А. 1999.* Основы иммунологии. М.: Медицина. 608 с.
- Alberts B., Bray D., Lewis J. et al. 1994.* Molecular biology of the cell. Moscow: Mir. (1) 517 p., (2) 539 p., (3) 504 p.
- Bremner W.J., Vitiello M.V., Prinz P.N. 1983.* Loss of circadian rhythmicity in blood testosterone levels with aging in normal men. *Clin. Endocrin. Metab.* 56: 1278-1281.
- Burrows H., Horning E. 1952.* Oestrogens and neoplasia. Springfield. Illinois.: Charles C. Thomas Publ. 189 p.
- Fernandez E., La Vecchia C., D'Avanzo B., Franceschi S., Parazzini F. 1996.* Oral contraceptives, hormone replacement therapy and the risk of colorectal cancer. *Brit.J.Cancer.* 73: 1431-1435.

- Glantz S.A. 1999. Primer of biostatistics. Moscow: Practica. 459 p.*
- Gray A., Feldman H.A., McKinlay J.B., Longcope C. 1991. Age, disease, and changing sex-hormone levels in middle-aged men : Results of the Massachusetts male aging study. Clin. Endocrinol. 73 (2): 1016-1025.*
- Jonat W., Maass H., Stegner H.E. 1986. Immunohistochemical measurement of estrogen receptors in breast cancer tissue samples. Cancer Res. 46: 4296-4298.*
- Kettyl W.M., Arky R.A., 2001. Endocrine pathophysiology. St. Petersburg: Nevsky Dialect. 336 c.*
- Lavin N. 1999. Endocrinology. Moscow: Practica. 1128 p.*
- Pechersky A.V., Semiglazov V.F., Mazurov V.I., Karpischenko A.I., Mikhailichenko V.V., Udintsev A.V. 2002. Androgen administration in middle-aged and ageing men: effects of oral testosterone undecanoate on dihydrotestosterone, estradiol and prostate volume. International Journal of Andrology. 25: 119-125.*
- Roitt I., Brostoff J., Male D. 2000. Immunology. Moscow: Mir. 582 p.*
- Ryde C. M., Nicholls J. E., Dowsett M. 1992. Steroid and growth factor modulation of aromatase activity in MCF7 and T 47D breast carcinoma cell lines. Cancer Res. 52: 1411-1415.*
- Sporn M. B. 1996. The war on cancer. Lancet. 347: 1377-1381.*
- Toma J.G., Akhavan M., Fernandes K.J. et al. 2001. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. Nat. Cell Biol. 3: 778-784.*
- Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P. et al. 2002. Human adipose tissue is source of multipotent stem cells. Mol. Biol. Cell. 13: 4279-4295.*

Авторы

Печерский Александр Викторович, к.м.н., Доцент, Кафедра Хирургических Болезней, Санкт-Петербургская Медицинская Академия Последипломного

Образования. 61-2, Шуваловский пр., кв. 51, Санкт-Петербург, 197373, Россия. Р.т.: 579-69-28; E-mail: a_pechersky@msn.com

Печерский Виктор Иванович, Профессор-консультант, Проблемная НИЛ, Государственная Академия Физической Культуры им.П.Ф.Лестгафта, Санкт-Петербург, Россия.

Асеев Михаил Владимирович, к.б.н., Старший Научный Сотрудник, Лаборатория Пренатальной Диагностики Наследственных Заболеваний, НИИ Акушерства и Гинекологии им. Д.О. Отта РАМН РФ. Менделеевская линия 3, Санкт-Петербург. Р.т.: +7 (812) 328-98-09.

Дробленков Андрей Всеволодович, к.м.н., Врач Судебно-Медицинской Экспертизы, Судебно-Гистологическое Отделение, Главное Управление Здравоохранения, «Бюро Судебно-Медицинской Экспертизы Санкт-Петербурга». Ул. Рашетова, д. 5, кв. 63, Санкт-Петербург, 194017, Россия. Р.т.: +7 (812) 544-40-65.

Семиглазов Владимир Федорович, д.м.н., Профессор, Генеральный Директор НИИ Онкологии им. Профессора Н.Н. Петрова. 28, пр.Энгельса, кв. 117, Санкт-Петербург, 195009, Россия. Р.т.: 596-89-18.

Authors

Pechersky, Alexander Victorovich, Ph. D., Senior Lecturer, Department of Surgical Diseases, St. Petersburg Medical Academy of Post-Graduate Studies. 4, Kirochnaya St., St. Petersburg, 193015, Russia. Office telephone: +7 (812) 579-69-28; Mobile telephone: +7 (812) 931-42-98; fax: +7 (812) 275-19-14,

e-mail: a_pechersky@msn.com

Pechersky, Victor Ivanovich, Professor-consultant, State Academy of Physical Education in the name of P.F. Lestgaft, 35, Dekabristov St., St. Petersburg, 190121, Russia.

Aseev Michael Vladimirovich, Ph. D., Head Scientific Researcher, Laboratory of Prenatal Diagnostics, Ott's Institute of Obstetric and Gynecology. Mendeleevskaya Line, 3, St. Petersburg, 199034, Russia. Office telephone: +7 (812) 328-98-09.

Droblenkov Andrey Vsevolodovich, M.D., Ph. D., Judicial-Histologic Department, Central Administrative Board of Public Health Services "Bureau of Judicial-Medical Examination of St. Petersburg". St. Petersburg, Russia. Office telephone: +7 (812) 544-40-65.

Semiglazov, Vladimir Fedorovich, M.D., Ph. D., Professor, General Director of the N.N. Petrov Scientific-Research Institute of Oncology. 28, Engels Pr., Apt. 117, St. Petersburg, 195009, Russia. Office telephone: +7(812) 596-89-18.