

А.М. Дыгай, Е.Г. Скурихин

Стволовая клетка. Новые подходы в терапии дегенеративных заболеваний

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии»
Томского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 634028, Томск, пр. Ленина, 3

В статье даётся характеристика мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток (СК) взрослого организма. Суммированы данные по ортодоксальным и неортодоксальным путям клеточной дифференцировки. Обсуждаются различные возможности применения стволовых клеток в клинической практике. Особое внимание уделено методам фармакологической регуляции эндогенных СК. Представлены собственные экспериментальные данные по изучению эффективности применения различных лекарственных средств (нейрофармакологические агенты, цитокиновые препараты, изменяющие структуру межклеточного матрикса соединения, пегилированные на полиэтиленгликоле биологически активные соединения) на моделях пневмофиброза и миелосупрессии, влияющих на функции стволовых клеток.

Ключевые слова: стволовая клетка, регенеративная медицина, фармакологическая регуляция, пневмофиброз, миелосупрессия

А.М. Dygai, E.G. Skurikhin

Stem cell. New approaches in the treatment of degenerative diseases

Institute of Pharmacology, Tomsk Scientific Centre of the Russian Academy of Medical Sciences, 3, Lenina street, Tomsk, 634028

The review describes the mesenchymal and hematopoietic stem cells (SC) of the adult organism. The data on the orthodox and unorthodox ways of cell differentiation was summarized. We discuss various possibilities of stem cells in clinical practice. Particular attention is paid to methods of pharmacological regulation of endogenous SC. Presented their own experimental data on the efficacy of various drugs (neuropharmacological agents, cytokine drugs that alter the structure of the extracellular matrix compounds, pegylated polyethylene glycol to the biologically active compounds) on models of fibrosis and myelosuppression, influencing the function of stem cells.

Key words: stem cell, regenerative medicine, cellular technology, pharmaceutical regulation, fibrosis, myelosuppression

Несмотря на достигнутые успехи в медикаментозном лечении ряда тяжёлых социально-значимых заболеваний (хронический гепатит, сахарный диабет, фиброз легкого, лейкопении и др.), сопровождающихся высокой степенью инвалидизации населения, полного выздоровления больных в подавляющем большинстве случаев не наблюдается. Большие надежды в дальнейшем прогрессе эффективности терапии указанных нозологий возлагают на такую активно развивающуюся в последнее десятилетие область медицинской науки, как регенеративная медицина и использование в клинической практике стволовых клеток (СК).

Впервые гипотезу о наличии общего предшественника всех клеток крови высказал А.А. Максимов в

1908 г. [115]. Экспериментальное подтверждение гипотезы было получено в середине XX века, когда удалось показать восстановление кроветворения у летально облученных мышей после внутривенного введения клеток сингенного костного мозга. В селезенке реципиентов были обнаружены [117, 159] дискретные очаги кроветворения (колонии), каждый из которых формировался из клоногенного предшественника (из одной клетки). За прошедшее столетие, гипотеза А.А. Максимова о монофилитическом происхождении клеток крови превратилась в учение о стволовой гемопоэтической клетке. По современным представлениям, гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) представляют собой недифференцированные клетки, способные к самовоспроизведению и дифференцировке в любую линию клеток крови и иммунной системы [4, 24, 28, 58, 128, 148, 151]. К уже известным направлениям дифференцировки было добавлено представление о дифференцировке ГСК в натуральные

Для корреспонденции: Скурихин Евгений Германович, д-р мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. патологической физиологии и экспериментальной терапии ФГБУ НИИФ СО РАМН. E-mail: ovpershina@gmail.com

киллеры и антиген-презентирующие дендритные клетки [31]. На сегодняшний день многими авторами признаётся гетерогенность пула гемопоэтических стволовых клеток. ГСК отличаются между собой по пролиферативному потенциалу, степени дифференцированности, рецепторам клеточной поверхности, чувствительности к цитокинам, положению в клеточном цикле и другим признакам [3, 20, 28, 31, 35, 85, 119, 151]. ГСК способны к пролиферации, самоподдержанию, миграции, коммитированию, дифференцировке, созреванию и гибели (апоптоз или некроз) [35, 129, 133, 148]. Считается, что большинство стволовых клеток находится в стадии G₀ клеточного цикла и лишь малая часть из них одновременно участвует в поддержании кроветворения [20, 31, 35, 36, 79].

Фенотипически ГСК характеризуются определенным составом мембранно-связанных антигенов, таких как CD34 (cluster of differentiation 34), CD 90 (thymocyte differentiation antigen 1, Thy1), CD 135 (fms-like tyrosine kinase receptor-3 (Flt3), fetal liver kinase-2 (Flk2)), рецептор для фактора стволовых клеток (c-Kit), антиген стволовых клеток (stem cell antigen 1, Sca-1), при отсутствии дифференцировочных маркеров (линейных, Lin-) [3, 29, 33, 34, 44, 46, 59, 148]. Антигенный фенотип гемопоэтической стволовой клетки человека может быть охарактеризован как Lin-c-Kit+CD34+CD38-. В качестве основного маркера ГСК человека используют молекулу адгезии CD34, трансмембранный гликопротеин, который экспрессирован на 1—3% костномозговых нуклеаров, 0,1—0,5% клеток пуповинной крови и 0,001—0,01% клеток периферической крови [3, 20, 41, 44, 46, 52, 53, 149]. Антиген CD34 выявлен на незрелых гемопоэтических клетках, части фибробластов, васкулярных эндотелиальных клетках [73, 105, 149]. Он ответствен за клеточную адгезию, опосредует взаимодействие ГСК с компонентами экстрацеллюлярного матрикса и стромальными клетками, ингибирует гемопоэтическую дифференцировку [69, 77, 105]. При созревании кроветворных прекурсоров CD34 постепенно утрачивается, дифференцированные клетки костного мозга и зрелые форменные элементы крови человека являются CD34-отрицательными [61, 155].

Многие поверхностные маркеры используются в ассоциации с CD34 для идентификации более примитивных популяций кроветворных клеток, таких, к примеру, как CD34⁺CD38⁻ клетки. Продемонстрировано, что в популяции CD34⁺CD38⁻ количество длительно репулирующих клеток (LTRS) превышает их число во фракции клеток с фенотипом CD34⁺CD38^{lo} [44, 47, 48]. Коэкспрессия антигенов CD10 или CD7 с CD34⁺ обнаружена на ранних человеческих лимфоидных коммитированных предшественниках [85]. Для общих миелоидных прекурсоров (CMP) характерна экспрессия

IL-3R^{lo} и CD45RA [112]. Высказывается мнение, что большинство поверхностных маркеров стволовых клеток не играют существенной роли в функционировании ГСК и, следовательно, экспрессия этих протеинов не может прямо коррелировать с потенциалом стволовых клеток. Так, при иммунофенотипировании ГСК были обнаружены клетки, которые не несут на своей поверхности молекул CD34 (имеют фенотип Lin⁻CD34⁻CD38⁻) [49, 70, 92]. По-видимому, в результате случайной (стохастической) генной транскрипции образуется фенотипически гетерогенная популяция гемопоэтических стволовых клеток, обладающих идентичными функциональными свойствами [44].

До настоящего времени окончательно не выяснены механизмы, отвечающие за выбор направления коммитирования ГСК. Согласно стохастической модели регуляции кроветворения коммитирование ГСК является процессом, индуцируемым случайными событиями — мутации генов, случайные эпигеномные феномены и др. [32, 80, 126, 127, 150]. При этом стохастичность не приводит к хаосу в гемопоэтической ткани, так как происходит постоянное пополнение кроветворных клеток из пула ГСК. Модель «случайно возбужденного гемопоэза» [159] постулирует, что неизвестные события превращают плюрипотентные гемопоэтические СК во все виды необратимо коммитированных предшественников с их «постоянным» распределением [27]. Только после этого существующие в ткани гемопоэтические ростовые факторы микроокружения вызывают пролиферацию и дифференцировку кроветворных прекурсоров. С позиций инструктивных моделей регуляции гемопоэза определение судьбы ГСК полностью контролируется и зависит от внешних воздействий. В соответствии с представлениями о гемопоэзе-индуцирующем микроокружении (ГИМ) коммитирование ГСК регулируется локальными клеточными и гуморальными факторами микроокружения и межклеточными взаимодействиями [25, 68, 118, 124, 163]. Существует мнение о том, что созревание ГСК определяется экспрессией клеточных рецепторов для гуморальных индукторов дифференцировки (эритропоэтин, колониестимулирующие факторы, интерлейкины и т.д.) [78]. Согласно экспериментальным данным [51], регуляция коммитирования ГСК осуществляется созревающими клетками по механизму отрицательной обратной связи.

Для объяснения механизмов, с помощью которых обеспечивается самоподдержание гемопоэтических стволовых клеток, предложена гипотеза так называемых «ниш», в которых ГСК находятся в стадии покоя [145, 152, 170]. Модель предполагает, что процесс выхода родоначальных элементов из указанных образований происходит случайно [22]. В настоящее время термин «ниша» используется для обозначения совокупности факторов, обеспечивающих жизнеспособность и само-

воспроизведение стволовых клеток и дифференциацию дочерних прекурсоров [54, 57, 100, 109, 110, 123, 154, 167, 175, 181, 182]. Среди них следует выделить наличие базальной мембраны, молекул внеклеточного матрикса и присутствие соседних клеток, продуцирующих факторы роста. В последние годы был обнаружен ряд молекул (ангиопоэтин, тромбopoэтин, хемокин CXCL12, остеопоэтин и др.), нарушение экспрессии которых существенно сказывается на взаимодействии ГСК со своей микросредой.

Иммуногистохимические исследования показали, что ГСК локализуются вблизи эндоста — гетерогенного слоя клеток, выстилающего костномозговую полость (так называемая «эндостальная» ниша ГСК). Эндостальная выстилка образована остеобластами, остеогенными клетками-предшественниками (часто обозначаемыми как «клетки костной выстилки» — bone-lining cells) и остеокластами, при этом остеобласты рассматриваются как главный клеточный компонент эндоста, отвечающий за регуляцию ГСК [54, 174, 181, 182]. Эти клетки экспрессируют ряд белков, необходимых для регуляции гемопоэтических стволовых клеток. К ним относятся Ang-1, удерживающий ГСК в нише, Vmi-1, отвечающий за пролиферацию, Jagged-1, способствующий самоподдержанию ГСК, и ряд других [130, 133, 154, 157]. В непосредственной близости от остеобластов локализуются симпатические нервные окончания [97]. В свою очередь, остеобласты экспрессируют на своей поверхности β_2 -адренергические рецепторы [67]. Через остеобласты адренергические нейроны могут являться эффектором активности ГСК. Так паратиреоидный гормон повышает уровень экспрессии Jagged-1 на поверхности остеобластов и, таким образом, через Notch-1 — Jagged-1 взаимодействие регулируется активность ГСК [174]. Положение гемопоэтических клеток относительно костномозгового микроокружения во многом определяется их дифференцировочным статусом. Так, длительно репопулирующие ГСК, а также непролиферирующие клетки располагаются ближе к остеобластам и эндосту нежели более зрелые мультипотентные или коммитированные кроветворные предшественники [110, 154].

В образцах костного мозга и селезенки мышей были обнаружены устойчивые ассоциации CD150⁺ ГСК с эндотелием сосудов, что указывает на возможное существование еще одной, «сосудистой» ниши ГСК [99]. Действительно, через сосудистый эндотелий поступают эндокринные сигналы от циркулирующих гормонов, цитокинов и факторов роста, поэтому контакт стволовых клеток с эндотелием позволяет ускорить их функциональный ответ на внешний стимул. Расположение гемопоэтических стволовых клеток по отношению к эндосту зависит от их функционального состояния и активности клеток микроокружения [110, 172]. По мнению

Y. Tong и L. Linheng (2006), рекруктирование ГСК в сосудистую нишу происходит под действием фактора роста фибробластов (ФРФ-4), стромального клеточного фактора-1 (SDF-1) и увеличения концентрации O₂. SDF-1 регулирует хоминг ГСК: мобилизацию в кровотоки (низкий уровень факторов) и обратную мобилизацию клеток в костный мозг (высокий уровень факторов) [162].

Разделение микроокружения ГСК на отдельные ниши рядом авторов подвергается сомнению, поскольку эндостальные и сосудистые компоненты находятся в тесной функциональной и структурной взаимосвязи [110, 175]. Данный вопрос остаётся дискуссионным в связи с тем обстоятельством, что влияние остальных костномозговых клеток (остеокластов, мегакариоцитов, ретикулярных клеток стромы и др.) на гомеостаз ГСК недостаточно изучено. Очевидно, имеет место «эндостально-сосудистая» ниша ГСК, объединяющая сигналы от разных клеток костного мозга [100, 110].

Длительное время существовало убеждение, что коммитирование и дифференцировка ГСК является односторонним необратимым процессом. Со временем стали появляться сведения о возможности изменения направления коммитирования кроветворных предшественников на разных стадиях развития [43, 82]. Было установлено, например, что гранулоцитарно-макрофагальные клетки-предшественники, трансдуцированные геном gata-1, приобрели способность дифференцироваться в сторону эритроидного ростка кроветворения [89]. M. Kondo с соавторами (2000) показали, что эктопическая экспрессия бета-цепи рецептора ИЛ-2 в общих лимфоидных предшественниках репрограммировала их развитие в миеломоноцитарном направлении [101].

Большой интерес представляет такое свойство взрослых стволовых клеток как «пластичность». Речь идёт о дифференцировке стволовых клеток в клетки других органов и тканей, часто происходящих даже из разных зародышевых листков. В литературе широко представлены данные о способности ГСК в определённых условиях культивирования и/или при трансплантации в кровотоки формировать не только клетки крови, но и гепатоциты, нейроны, миоциты, клетки эпителия кишечника и эндотелия сосудов, β -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы, дермы, кардиомиоциты [2, 14, 16, 30, 40, 56, 63, 75, 81, 93, 103, 106, 108, 158, 166, 176]. Считается, что ГСК мигрируют в повреждённые участки тканей за счёт хоминга, обусловленного рядом факторов, образующихся в месте повреждения [39, 71, 104, 107]. В частности, к хемокину SDF-1 (Stroma Derived Factor) ГСК имеются рецепторы типа CXCR4 [96]. В результате в очаге повреждения скапливаются ГСК и под влиянием нового микроокружения дифференцируются в клетки этих

тканей и тем самым осуществляют репарацию дефекта [20, 81].

Предполагают несколько механизмов пластичности ГСК: трансдифференцировка, дедифференцировка, наличие редкой плюрипотентной СК костного мозга, клеточное слияние [166]. Указанные потенциальные возможности гемопоэтических СК во многом определяют высокий интерес исследователей к их применению в клинике для оптимизации репаративных процессов различных тканей. Рядом авторов пластичность ГСК подвергается сомнению. Слияние клеток (fusion), присутствие в тканях кроветворных клеток (макрофаги и лимфоциты), которые маскируются под клетки органа, сложность определения маркеров, низкое содержание клеток кроветворного происхождения повышают вероятность обнаружения артефакта пластичности СК [30, 55, 165].

Активно изучается пластичность мезенхимальных стволовых клеток [5, 6, 26, 44, 55, 65, 87, 88, 90]. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) открыты А.Я. Фриденштейном и сотрудниками ещё во второй половине прошлого столетия [76]. Фенотипически МСК взрослого организма существенно отличаются от ГСК. Клетки идентифицируют по отсутствию маркеров, характерных для гемопоэтических клеток (CD34⁻, CD45⁻, glycophorin A⁻, CD14⁻, HLA-DR, антигенов CD80 и CD86) и по наличию таких сигнальных молекул, как CD105, CD129, CD166, CD90, CD44, CD29, CD13, CD106 (VCAM-1), ICAM-2, LFA-3 [95, 180]. Дифференцировка МСК более изучена, чем ГСК. При высокой плотности посева примитивные мезенхимальные клетки способны спонтанно дифференцироваться в направлении остеоцитов, адипоцитов, хондроцитов, миоцитов и клеток стромы костного мозга [31, 94, 113, 125, 136, 137, 168, 178, 183]. Это так называемые ортодоксальные пути дифференцировки.

В последние годы обсуждается вопрос о том, что МСК могут являться предшественниками кардиомиоцитов [138, 139, 161], клеток нервной ткани [5, 30]. Существуют данные о дифференцировке МСК в направлении гладких мышц сосудов [31], эндотелиальных клеток с последующим васкуло- и ангиогенезом [147], в гепатоциты и клетки бронхиального эпителия [38]. При трансплантации МСК в область 1-го сомита на ранних стадиях развития куриного эмбриона донорские клетки участвуют в формировании почки [177]. Как видно, регенераторный потенциал МСК выходит за рамки ортодоксальной дифференцировки [17]. Это значительно расширяет возможность их применения в регенеративной медицине. На сегодняшний день активно обсуждается вопрос о возможности использования мезенхимальных СК взрослого организма для лечения ряда деструктивных заболеваний, таких, как болезни Паркинсона, Альцгеймера, инфаркта миокарда, пневмофиброза, диабета, гепатита, поражения суставов, переломов костей, атрофии межпозвоночных

дисков. Однако следует отметить, что практически во всех случаях клиническое использование МСК из таких источников как жировая, костномозговая и мышечная ткани, а также сухожилия трудоёмки, сопряжены длительными и достаточно болезненными процедурами. Неизбежные при использовании трансплантатов дополнительные манипуляции вне организма (в том числе прекультуривание) значительно сокращают дифференцировочный потенциал клеток [134, 146]. Опасность заключается и в достаточно малой изученности неортодоксальных направлений дифференцировок МСК, в частности, речь идёт о неконтролируемости процесса и высоком риске новообразований. С этих позиций актуален поиск новых подходов к терапии заболеваний с использованием стволовых клеток.

В последнее десятилетие появилось множество сообщений на тему так называемой «региональной СК». Взрослые региональные СК сохраняются в постнатальном периоде, созревают в клетки органа, из которого получены, по пролиферативному и дифференцировочному потенциалу незначительно уступают стволовым клеткам костного мозга и периферической крови, многие исследователи считают их мультипотентными [6]. Известны СК печени, поджелудочной железы, кожных покровов, нервной системы, эндотелия и кишечника взрослого организма [3, 18, 37, 66, 160]. Удалось выделить нейрональные СК, которые дают в культуре нейросферы — клеточные агрегаты сферической формы [141, 143]. В нейросферах происходит спонтанная дифференцировка клеток в нейрональном, астроглиальном и олигодендроглиальном направлениях [42]. Обсуждается вопрос о региональной СК скелетной мускулатуры [18], причём некоторыми авторами оспаривается существование такой клетки. Считается, что в данном случае речь идёт о мезенхимальной стволовой клетке [60, 181, 182]. Из миокарда новорождённых крыс и взрослого животного получены пролиферирующие клетки, способные дифференцироваться в кардиомиоциты и эндотелий сосудов [45, 169]. Значение региональных стволовых клеток в физиологической и репаративной регенерации огромно [5, 23, 72].

В настоящее время активно развивается направление фармакологической регуляции эндогенных стволовых клеток, основывающееся на принципе подражания эндогенным механизмам регуляции [10, 24]. Работая в указанном направлении, мы использовали различные модели патологических состояний (цитостатическая миелосупрессия, токсический пневмофиброз, гипоксическая травма, сахарный диабет, инфаркт миокарда и др.). Как частный случай успешного применения методологии фармакологической регуляции СК при патологии выступают данные, полученные на модели пневмофиброза. Современная

терапия идиопатического фиброза лёгких представлена противовоспалительными (глюкокортикостероиды, цитостатики), антифиброзными (*D*-пеницилламин, тетраиомолибдат, колхицин), антиоксидантными (*N*-ацетилцистеин) и цитокиновыми (γ IFN) препаратами [91, 98, 116]. Эффективность лечения не оправдывает ожиданий, поскольку лекарственные средства способны лишь притормозить прогрессирование фибротического процесса. Современные терапевтические подходы с участием СК ограничиваются использованием клеточных трансплантатов [122, 131, 142]. Собственные экспериментальные исследования позволили установить, что костномозговые ГСК и коммитированные кроветворные клетки-предшественники активно поддерживают воспалительную реакцию в лёгочной ткани мышей линии C57BL/6, инициированную однократным интратрахеальным введением блеомицина [13]. Считается, что гемопоэтические клетки способны мигрировать по кровеносному руслу в различные органы (в том числе в лёгкие) [114]. В связи с этим нами не исключается миграция мобилизованных полипотентных кроветворных предшественников, дающих в культуре рост колоний, состоящих из недифференцированных гемопоэтических клеток (КОЕ-Н), частично детерминированных гранулоцито-эритроидно-макрофагально-мегакариоцитарных клеток-предшественников (КОЕ-ГЭММ) и коммитированных предшественников эритроидного (КОЕ-Э) и миелоидного (КОЕ-Г) ростков кроветворения в поврежденную блеомицином ткань лёгких. Дополнительным механизмом, поддерживающим повышенное содержание таких клеток воспаления, как нейтрофильные гранулоциты, можно считать стимуляцию дифференцировки КОЕ-Н и КОЕ-ГЭММ в направлении клеток гранулоцитарного роста кроветворения [13].

Поиск молекул, способных снижать активность ГСК проводился в трёх направлениях:

1) нейрофармакологические средства (симпатолитик резерпин, нейролептик галоперидол, антисеротониновый препарат ципрогептадин);

2) цитокиновые препараты (Г-КСФ, фактор роста гепатоцитов и др.);

3) соединения, изменяющие структуру межклеточного матрикса (гиалуронидаза и др.).

В условиях пневмофиброза наиболее высокой противовоспалительной активностью и одновременно снижающих мобилизацию ГСК и их дифференцировку в направлении предшественников грануломоноцитопоза обладали симпатолитик и антисеротониновый препарат. Снижение содержания соединительной ткани в лёгких под влиянием ципрогептадина и галоперидола более существенно, чем при назначении симпатолитика (таблица). Выявленные различия в действии препаратов, вероятно, объясняются отсутствием активности резерпина в отношении стволовых и коммитированных клеток мезенхимопоза. Как известно, с коммитированными клетками-предшественниками фибробластов (КОЕ-Ф) связан синтез коллагеновых волокон [13, 120], а с МСК, предположительно, процессы — реконструкции — мезенхимально-эпителиальный переход (приобретение мезенхимальными стволовыми клетками характеристик альвеолярных клеток и восполнение числа альвеоцитов) [144, 147]. Нейролептик и антисеротониновый препарат оказывают мобилизирующее действие на МСК и одновременно снижают активность КОЕ-Ф.

В отличие от нейролептика, антисеротонинового препарата и симпатолитика, препараты рекомбинантного человеческого Г-КСФ (филграстим, ленграстим, нейтростим) усиливали инфильтрацию интерстиция альвеол и альвеолярных ходов воспалительными клетками (преимущественно нейтрофилами), в стенках альвеол животных регистрировалось более выраженное венозное полнокровие по отношению к блеомициновому контролю и наличие кровоизлияний, скорость разрастания соединительной ткани в лёгких повышалась. Механизмом

Таблица

Влияние нейрофармакологических агентов, препаратов Г-КСФ и гиалуронидазы на воспалительную реакцию и содержание соединительной ткани в лёгких мышей линии C57BL/6 на фоне моделирования фиброза лёгких

	Воспаление	Соединительная ткань
Резерпин	– –	–
Галоперидол	–	– –
Ципрогептадин	– –	– –
Г-КСФ	+	+
Иммобилизованный Г-КСФ	+	+
Гиалуронидаза	–	–
Иммобилизованная гиалуронидаза	–	– –

Примечание. – – угнетение; + – стимуляция

провоспалительной и фибротической активности препаратов Г-КСФ является стимуляция костномозговых КОЕ-Н и КОЕ-Г.

Большие надежды в повышении эффективности терапии лёгочных заболеваний исследователи связывают с препаратами на основе гиалуронидазы [50]. Регуляцией баланса гиалуроновая кислота — гиалуронидаза можно влиять на формирование экстрацеллюлярного матрикса и цитокиновый профиль в тканях [153, 173]. По нашим данным, гиалуронидаза снижает накопление коллагена в лёгких мышей с блеомицином. Протективное действие гиалуронидазы, по всей видимости, связано с мезенхимальными стволовыми клетками. Известно, что введение гиалуронидазы сопровождается накоплением в бронхоальвеолярном пространстве МСК, способных дифференцироваться, в том числе, и в эпителиальные клетки (мезенхимально-эпителиальный переход) [86, 153]. Не исключается и угнетение гиалуронидазой продукции трансформирующего фактора роста β.

В настоящее время модификация биологически активных соединений путём присоединения полимерных молекул является одним из способов повышения их стабильности и длительности терапевтического действия. Наибольшую известность получил метод модификации лекарственных веществ с помощью присоединения к ним молекул полиэтиленгликоля (пегилирование). Химическое пегилирование цитокинов увеличивает растворимость за счёт повышения гидрофильности, размера и массы частицы, снижая таким образом интенсивность почечной экскреции и период полувыведения из организма [62, 64, 74, 84, 121, 135, 140, 179]. При этом уменьшается доступность частиц для протеолитических ферментов и их иммуногенность [132, 135]. Безусловно, существует определённая перспектива использования в клинике препаратов данного класса. Однако технология химического синтеза пегилированных цитокинов является многостадийной, сложной, с использованием высокотоксичных соединений, требующая очистки готового продукта [84]. Альтернативой химическому пегилированию выступает электронно-лучевой (радиационный) синтез [164], который позволяет получать низкоиммуногенные и малотоксичные фармакологические средства белковой природы [1, 7, 8, 9, 11, 12, 15].

Проведённые совместно с ООО «Саентифик фьючер менеджмент» (г.Новосибирск) экспериментальные исследования позволили продемонстрировать противифибротическую активность иммобилизованной гиалуронидазы и провоспалительную активность иммобилизованного Г-КСФ (имГ-КСФ) на модели блеомицинового фиброза лёгких. Примечательно, что эффекты были сопоставимы с непегилированными формами цитокина и фермента при более низкой концентрации вводимых иммобилизованных соединений.

Как гемостимулятор иммобилизованный Г-КСФ представляет большую привлекательность. По нашим данным, пегилированный Г-КСФ ускорял восстановление подавленного циклофосфаном гранулоцитарного роста кроветворения [1, 8, 10, 11]. При сравнении гранулоцитопозэстимулирующей активности имГ-КСФ и препарата негликозилированного Г-КСФ человека филграстим (нейпоген, «Hoffman-La Roche Ltd.», Швейцария) оказалось, что эффект пегилированного цитокина был более умеренный без овершута. Действие иммобилизованного Г-КСФ связано со стимуляцией КОЕ-Н, КОЕ-ГЭММ (дифференцировка в направлении предшественников грануломоноцитопозэа) и в меньшей степени — с КОЕ-Г [1, 11]. По некоторым данным, высвобождение активного вещества из конъюгата «полиэтиленгликоль-цитокин» происходит медленно [19], этим можно объяснить постепенный прирост нейтрофилов в периферической крови при введении имГ-КСФ. С нашей точки зрения, более «мягкая» стимуляция гранулоцитопозэа пегилированным цитокином является преимуществом перед филграстином, длительное применение которого может способствовать появлению ряда побочных эффектов (описаны случаи синдрома острой дыхательной недостаточности, поражение лёгких, спленомегалия, в редких случаях, с разрывом селезенки) [21, 156], подавление тромбоцитарного роста гемопоэза [102] и развитие острого миелолейкоза (подтип М1) [111].

Таким образом, использование стволовых клеток является наиболее перспективным подходом в терапии дегенеративных заболеваний. Наиболее эффективным и в то же время безопасным методом регенеративной медицины является фармакологическая модуляция функций эндогенных стволовых клеток, основанная на принципе подражания естественным регуляторным системам.

Список литературы

1. *Андреева Т.В., Артамонов А.В., Бекарев А.А.* и др. Роль стромальных и Thy 1,2⁺-клеток в механизмах действия иммобилизованного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора при цитостатической миелосупрессии // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2010. — Т. 150, №11. — С. 523—528.
2. *Ватутин Н.Т., Гринь В.К., Калинин Н.В.* и др. Роль трансплантации стволовых гемопоэтических клеток в регенерации поврежденных тканей // Украинский медицинский журнал. — 2003. — №3. — С. 42—49.
3. *Воробьев А.И.* Руководство по гематологии: в 3 т. Т. 1. / Под ред. А.И. Воробьева. 3-е изд-е, перераб. и допол. — М.: Ньюдиамед, 2002. — 280 с.
4. *Гаврилов О.К., Козинец Г.И., Черняк Н.Б.* Клетки костного мозга и периферической крови. — М.: Медицина, 1985. — 288 с.
5. *Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В.* Современные взгляды на проблему стволовых клеток и возможности их использования в медицине //

Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2002. — №4. — С. 184—189.

6. **Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В.** и др. Влияние гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на восстановление миокарда в постинфарктном периоде // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2005. — Т. 139, №3. — С. 297—301.

7. **Дыгай А.М., Артамонов А.В., Верещагин Е.И., Мадонов П.Г.** Создание нового класса лекарственных препаратов на основе нанотехнологий // Сборник тезисов докладов участников Второго Международного форума по нанотехнологиям. — М., 2009. — С. 607—609.

8. **Дыгай А.М., Верещагин Е.И., Жданов В.В.** и др. Механизмы гранулоцитопозестимулирующей активности иммобилизованного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора при цитостатической миелосупрессии // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2009. — №7. — С. 60—64.

9. **Дыгай А.М., Артамонов А.В., Бекарев А.А.** и др. Гемостимулирующие эффекты иммобилизованной гиалуронидазы и механизмы их развития при цитостатической миелосупрессии // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2010. — №5. — С. 528—531.

10. **Дыгай А.М., Жданов В.В.** Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор. Фармакологические аспекты. — М.: Изд-во РАМН, 2010. — 138 с.

11. **Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Андреева Т.В.** и др. Действие иммобилизованного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на кроветворные предшественники различных классов при цитостатической миелосупрессии // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2010. — Т. 148, №3. — С. 255—260.

12. **Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В.** и др. Гемостимулирующие свойства иммобилизованного с помощью нанотехнологии электронно-лучевого синтеза эритропоэтина // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2011. — №2. — С. 207—210.

13. **Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Андреева Т.В.** и др. Реакции системы крови и стволовых клеток в условиях блеомициновой модели фиброза легких // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2011. — Т. 152, №8. — С. 132—136.

14. **Ерешев С.И., Степанов С.С., Семченко В.В., Щербачков П.Н.** Структурно-функциональная характеристика неокортекса при очаговой травме мозга и внутримозговой гетеротопической трансплантации эмбриональной нервной ткани // Сибирский медицинский журнал (Томск). — 2005. — Т. 20, №1. — С. 26—31.

15. Иммобилизованный гранулоцитарный колониестимулирующий фактор / Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В. и др. — Томск: Изд-во ООО «Печатная мануфактура», 2011. — 149 с.

16. **Карпов Р.С., Попов С.В., Марков В.А.** и др. Аутологичные мононуклеарные клетки костного мозга в процессах восстановительной регенерации при остром инфаркте миокарда // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2005. — №4. — С. 239—243.

17. **Котенко К.В., Мороз Б.Б., Надежина Н.М., Галстян И.А., Онищенко Н.А., Еремин И.И., Дешеовой Ю.Б., Лебедев В.Г., Слободина Т.С., Дубицкий С.Е., Гринаковская О.С., Жутов Ю.А., Бушманов А.Ю.** Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток при лечении лучевых поражений кожи // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2011 — №1. — С. 20—26.

18. **Кругляков П.В., Соколова И.Б., Польшцев Д.Г.** Стволовые клетки дифференцированных тканей взрослого организма // Цитология. — 2008. — Т. 50, №7. — С. 557—567.

19. **Лактин В.М., Афанасьев С.С., Лактин М.В.** и др. Нанотехнологии и перспективы их использования в

медицине и биотехнологии // Вестник Российской АМН. — 2008. — №4. — С. 50—55.

20. **Малайцев В.В., Богданова И.М., Сухих Г.Т.** Современные представления о биологии стволовой клетки // Архив патологии. — 2002. — Т. 64. — №4. — С. 7—11.

21. **Нифонтова И.Н., Бизильдеев А.И., Сац Н.В.** и др. Влияние длительного воздействия гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на кроветворение // Гематология и трансфузиология: научно-практический журнал. — 2008. — №5. — С. 50—55.

22. **Скофилд Р., Декстер Т.М.** Самоподдерживание стволовых клеток-предшественников // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1982. — Т. 17. — Вып. 7. — С. 13—18.

23. **Сухих Г.Т., Малайцев В.В., Богданов И.М., Дубровина И.В.** Мезенхимальные стволовые клетки // Бюл. эксперим. биол. — 2002. — Т. 133, №2. — С. 124—131.

24. Фармакологическая регуляция системы крови при экспериментальных невротических воздействиях / Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. и др. — Томск: Изд-во ТГУ, 2007. — 155 с.

25. **Фриденштейн А.Я., Лурия Е.А.** Клеточные основы кроветворного микроокружения. — М.: Медицина, 1980. — 213 с.

26. **Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е.** и др. Костный мозг как источник получения мезенхимальных клеток для восстановительной терапии поврежденных органов // Вестн. трансплантологии и искусств. органов. — 2002. — №4. — С. 3—6.

27. **Чертков И.Л., Фриденштейн А.Я.** Клеточные основы кроветворения. — М., 1977. — 272 с.

28. **Чертков И.Л., Гуревич О.А.** Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. — М.: Медицина, 1984. — 238 с.

29. **Чертков И.Л., Дризе Н.И.** Как обеспечивается поддержание кроветворной системы // Гематол. и трансфузиол. — 1998. — Т. 43, №4. — С. 3—8.

30. **Чертков И.Л., Дризе Н.И.** Дифференцировочный потенциал стволовых клеток (Проблема пластичности) // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2005. — №10. — С. 37—44.

31. **Чертков И.Л., Дризе Р.И., Воробьев А.И.** Схема кроветворения // Терапевтический архив. — 2006. — №7. — С. 5—12.

32. **Abkowitz J.L., Catlin S.N., Gutter P.** Evidence that hematopoiesis may be a stochastic process in vivo // Nat. Med. — 1996. — Vol. 2. — P. 190—197.

33. **Adolfsson J., Mansson R., Buza-Vidas N.** et al. Identification of Flt3+ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential a revised road map for adult blood lineage commitment // Cell. — 2005. — Vol. 121. — P. 295—306.

34. **Akashi K., Eto T., Shibuya T.** et al. Aclarubicin induces differentiation of leukemic progenitors in myelodysplastic syndrome cooperating with granulocyte colony-stimulating factor // Leuk. Res. — 2000. — Vol. 24, №3. — P. 243—248.

35. **Alenzi Faris Q.** Role of airway epithelium in engulfing apoptotic eosinophils // Nigerian journal of medicine: journal of the National Association of Resident Doctors of Nigeria. — 2009. — Vol. 18. — P. 149—157.

36. **Al-Hajj M., Clarke M.F.** Self-renewal and solid tumor stem cells // Oncogene. — 2004. — Vol. 23. — P. 7274—7282.

37. **Alonso L., Fuchs E.** Stem cells of the skin epithelium // Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100. — 2003. — Vol. 11 (Suppl. 1). — P. 11830—11835.

38. **Anjos-Afonso F., Siapati E., Bonnet D.** In vivo contribution of murine mesenchymal stem cells into multiple cell-types under minimal damage conditions // *J. Cell Sci.* — 2004. — Vol. 117. — P. 5655–5664.
39. **Badiavas E.V., Abedi M., Butmarc J.** et al. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing // *J. Cell Physiol.* — 2003. — Vol. 196, №2. — P. 245–250.
40. **Bailey A.S., Jiang S., Afentoulis M.** et al. Transplanted adult hematopoietic stem cells differentiate into functional endothelial cells // *Blood.* — 2004. — Vol. 103, №1. — P. 13–29.
41. **Baum C.M., Weissman I.L., Tsukamoto A.S.** et al. Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1992. — Vol. 89. — P. 2804–2808.
42. **Bazan E., Alonso F., Redondo C.** et al. In vitro and in vivo characterization of neural stem cells // *Histol. Histopathol.* — 2004. — Vol. 19. — P. 1261–1275.
43. **Beug H., Blundell P.A., Graf T.** Reversibility of differentiation and proliferative capacity in avian myelomonocytic cells transformed by tsE26 leukemia virus // *Genes Dev.* — 1987. — Vol. 1, №3. — P. 277–286.
44. **Bellantuono I.** Haemopoietic stem cells // *The international journal of biochemistry & cell biology.* — 2004. — Vol. 36. — P. 607–620.
45. **Beltrami A., Barlucchi L., Torella D.** et al. Adult cardiac stem are multipotent and support myocardial regeneration // *Cell.* — 2003. — Vol. 114. — P. 763–776.
46. **Benedetti F.** CD34+ cells: biological aspects // *Tumori.* — 1996. — Vol. 82 (2 Suppl.). — P. 3–13.
47. **Bhatia M., Bonnet D., Kapp U.** et al. Quantitative analysis reveals expansion of human hematopoietic repopulating cells after short-term ex vivo culture // *J. Exp. Med.* — 1997. — Vol. 186, №4. — P. 619–624.
48. **Bhatia M., Wang J.C., Kapp U.** et al. Purification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating immune-deficient mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1997. — Vol. 94, №10. — P. 5320–5325.
49. **Bhatia M., Bonnet D., Murdoch B.** et al. A newly discovered class of human hematopoietic cells with SCID-repopulating activity // *Nat. Med.* — 1998. — Vol. 9. — P. 1038–1045.
50. **Bitencourt C.S., Pereira P.A.T., Ramos S.G.** et al. Hyaluronidase recruits mesenchymal-like cells to the lung and ameliorates fibrosis // *Fibrogenesis & Tissue repair.* — 2011. — Vol. 4, №3. — P. 2–14.
51. **Blackett N., Botnick L.** A regulatory mechanism for the number of pluripotent haemopoietic progenitor cells in mice // *Blood Cells.* — 1981. — Vol. 7, №2. — P. 417–439.
52. **Brugger W., Bross K.J., Glatt M.** et al. Mobilization of tumor cells and hematopoietic progenitor cells into peripheral blood of patients with solid tumors // *Blood.* — 1994. — Vol. 83, №3. — P. 636–640.
53. **Brugger W., Henschler R., Heimfeld S.** et al. Positively selected autologous blood CD34+ cells and unseparated peripheral blood progenitor cells mediate identical hematopoietic engraftment after high-dose VP16, ifosfamide, carboplatin, and epirubicin // *Blood.* — 1994. — Vol. 84, №5. — P. 1421–1426.
54. **Calvi L.M., Adams G.B., Weibrecht K.W.** et al. Osteoblastic cells regulate the hematopoietic stem cell niche // *Nature.* — 2003. — Vol. 425. — P. 841–846.
55. **Camargo F.D., Chambers S.M., Goodell M.A.** Stem cell plasticity: from transdifferentiation to macrophage fusion // *Cell Prolif.* — 2004. — Vol. 37, №1. — P. 55–65.
56. **Cavazzana-Calvo M., Lagresle C., Andre-Schmutz I., Hacein-Bey-Abina S.** The bone marrow: a reserve of stem cells able to repair various tissues? // *Ann. Biol. Clin. (Paris).* — 2004. — Vol. 62. — P. 131–139.
57. **Chan C.K., Chen C.C., Luppen C.A.** et al. Endochondral ossification is required for haematopoietic stem-cell niche formation // *Nature.* — 2009. — Vol. 457, №7228. — P. 490–494.
58. **Cheung A.M., Kwong Y.L., Liang R., Leung A.Y.** Stem cell model of hematopoiesis // *Curr. Stem. Cell. Res. Ther.* — 2006. — Vol. 1, №3. — P. 305–315.
59. **Christensen J.L., Weissman I.L.** Flk-2 is a marker in hematopoietic stem cell differentiation: a simple method to isolate long-term stem cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — Vol. 98. — P. 14541–14546.
60. **Chu J., Zhao J., Ding S.** et al. Activation of automesenchymal stem cells of skeletal muscle by bone morphogenetic protein for rescuing bone marrow failure // *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yan Xue Bao.* — 2002. — Vol. 24. — P. 272–275.
61. **Civin C.I., Strauss L.C., Fackler M.J.** et al. Positive stem cell selection—basic science // *Prog. Clin. Biol. Res.* — 1990. — Vol. 333. — P. 387–401, discussion P. 402.
62. **Curran M.P., Goa K.L.** Pegfilgrastim // *Drugs.* — 2002. — Vol. 62. — P. 1207–1213.
63. **Danet G.H., Luongo J.L., Butler G.** et al. ClqRp defines a new human stem cell population with hematopoietic and hepatic potential // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99, №16. — P. 10441–10445.
64. **Delgado C., Francis G.E., Fisher D.** The uses and properties of PEG-linked proteins // *Crit. Rev. Ther. Drug. Carr. Syst.* — 1992. — Vol. 9. — P. 294–304.
65. **Dezawa M., Ishikawa H., Hoshino M.** et al. Potential of bone marrow stromal cells in applications for neuro-degenerative, neuro-traumatic and muscle degenerative diseases // *Curr. Neuropharmacol.* — 2005. — Vol. 3, №4. — P. 257–266.
66. **Dunnwald M., Tomanek-Chalkley A., Alexandrunas D.** et al. Isolating a pure population of epidermal stem cells for use in tissue engineering // *Exp. Dermatol.* — 2001. — Vol. 10. — P. 45–54.
67. **Eleferiou F., Ahn J.D., Takeda S.** et al. Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART // *Nature.* — 2005. — Vol. 434, №7032. — P. 514–520.
68. **Enver T., Heyworth C.M., Dexter T.M.** Do stem cells play dice? // *Blood.* — 1998. — Vol. 92(2). — P. 348–352.
69. **Fackler M.J., Krause D.S., Smith O.M.** et al. Full-length but not truncated CD34 inhibits hematopoietic cell differentiation of M1 cells // *Blood.* — 1995. — Vol. 85, №11. — P. 3040–3047.
70. **Fang B., Liao L., Shi M.** et al. Multipotency of Flk1CD34 progenitors derived from human fetal bone marrow // *J. Lab. Clin. Med.* — 2004. — Vol. 143, №4. — P. 230–240.
71. **Fathke C., Wilson L., Hutter J.** et al. Contribution of bone marrow-derived cells to skin: collagen deposition and wound repair // *Stem Cells.* — 2004. — Vol. 22, №5. — P. 812–822.
72. **Ferrari G., Cusella-De Angelis G.** et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors // *Science.* — 1998. — Vol. 279. — P. 1528–1530.
73. **Fina L., Molgaard H.V., Robertson D.** et al. Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells // *Blood.* — 1990. — Vol. 75, №12. — P. 2417–2426.
74. **Frampton J.E., Keating G.M.** Spotlight on pegfilgrastim in chemotherapy-induced neutropenia // *BioDrugs.* — 2005. — Vol. 19. — P. 405–407.
75. **French S.W., Hoyer K.K., Shen R.R., Teitell M.A.** Transdifferentiation and nuclear reprogramming in

hematopoietic development and neoplasia // *Immunol. Rev.* — 2002. — Vol. 187. — P. 22–39.

76. **Friedenstein A.J., Petrakova K.V., Kurolesova A.I.** et al. Heterotypic transplants of bone marrow: analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues // *Transplant.* — 1968. — Vol. 6. — P. 230–247.

77. **Furness S.G., McNaghy K.** Beyond mere markers: functions for CD34 family of sialomucins in hematopoiesis // *Immunol. Res.* — 2006. — Vol. 34(1). — P. 13–32.

78. **Goldwasser E.** Erythropoietin and red cell differentiation // Cunningham D., Goldwasser E., Watson J., Fox C.F. (ed.). *Control of cellular division and development. Part A.* — N.Y.: Alan Liss., 1981. — P. 487–494.

79. **Gordon M.Y., Ford A.M., Greaves M.F.** Interactions of hematopoietic progenitor cells with extracellular matrix // *The Hematopoietic Microenvironment.* Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, 1993. — P. 152–174.

80. **Gordon M.Y., Amos T.A.** Stochastic effects in hemopoiesis // *Stem Cells.* — 1994. — Vol. 12. — P. 175–179.

81. **Goodell M.A., Jackson K.A., Majka S.M.** et al. Stem cell plasticity in muscle and bone marrow // *Ann. NY Acad. Sci.* — 2001. — Vol. 938. — P. 208–220.

82. **Graf T.** Differentiation plasticity of hematopoietic cells // *Blood.* — 2002. — Vol. 99(9). — P. 3089–3101.

83. **Graham G.J., Wright E.G.** Haemopoietic stem cells: their heterogeneity and regulation // *Int. J. Exp. Pathol.* — 1997. — Vol. 78. — P. 197–218.

84. **Hamidi M., Azadi A., Rafiei P.** Pharmacokinetic consequences of pegylation // *Drug Delivery.* — 2006. — Vol. 13. — P. 399–409.

85. **Hao Q.L., Zhu J., Price M.A.** et al. Identification of a novel, human multilymphoid progenitor in cord blood // *Blood.* — 2001. — Vol. 97(12). — P. 3683–3690.

86. **Hardie W.D., Glasser S.W., Hagood J.S.** // *Am. J. of Pathol.* — 2009. — Vol. 175. — P. 3–16.

87. **Hematti P., Sloand E.M., Carvalho C.A.** et al. Absence of donor-derived keratinocyte stem cells in skin tissues cultured from patients after mobilized peripheral blood hematopoietic stem cell transplantation // *Exp. Hematol.* — 2002. — Vol. 30, №8. — P. 943–949.

88. **Herzog E.L., Chai L., Krause D.S.** Plasticity of marrow-derived stem cells // *Blood.* — 2003. — Vol. 102, №10. — P. 3483–3493.

89. **Heyworth C.M., Gagen D., Edington K.G., Fairbairn L.J.** Retroviral transfer and expression of human MDR-1 in a murine haemopoietic stem cell line does not alter factor dependence, growth or differentiation characteristics // *Leukemia.* — 2002. — Vol. 16, №1. — P. 106–111.

90. **Hirschi K.K., Goodell M.A.** Hematopoietic, vascular and cardiac fates of bone marrow-derived stem cells // *Gene Ther.* — 2002. — Vol. 9. — P. 648–652.

91. **Horowitz J.C., Thannickal V.J.** Idiopathic pulmonary fibrosis: new concepts in pathogenesis and implications for drug therapy // *Treatment in Respiratory Medicine.* — 2006. — Vol. 5. — P. 325–342.

92. **Huss R.** Isolation of primary and immortalized CD34-hematopoietic and mesenchymal stem cells from various sources // *Stem Cells.* — 2000. — Vol. 18(1). — P. 1–9.

93. **Ianus A., Holz G.G., Theise N.D.** et al. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion // *J. Clin. Invest.* — 2003. — Vol. 111. — P. 843–850.

94. **Johnstone B., Hering T., Caplan A.** et al. *In vitro* chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal

progenitor cells // *Exp. Cell Res.* — 1998. — Vol. 238. — P. 265–272.

95. **Jorgensen C., Djouad F., Apparailly F.** et al. Engineering mesenchymal stem cells for immunotherapy // *Gene Therapy.* — 2003. — Vol. 10. — P. 928–931.

96. **Juarez J., Bendall L.** SDF-1 and CXCR4 in normal and malignant hematopoiesis // *Histol. Histopathol.* — 2004. — Vol. 19. — P. 299–309.

97. **Katayama Y., Battista M., Kao W.M.** et al. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow // *Cell.* — 2006. — Vol. 124, №2. — P. 407–421.

98. **Khalil N., O'Connor R.** Idiopathic pulmonary fibrosis: current understanding of the pathogenesis and the status of treatment // *Canadian Medical Association Journal.* — 2004. — Vol. 171. — P. 153–160.

99. **Kiel M.J., Yilmaz O.H., Iwashita T.** et al. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells // *Cell.* — 2005. — Vol. 121. — P. 1109–1121.

100. **Kiel M.J., Morrison S.J.** Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells // *Nat. Rev. Immunol.* — 2008. — Vol. 8. — P. 290–301.

101. **Kondo M., Scherer D.C., Miyamoto T.** et al. Cell-fate conversion of lymphoid-committed progenitors by instructive actions of cytokines // *Nature.* — 2000. — Vol. 407, №6802. — P. 383–386.

102. **Kovacic J.C., Macdonald P., Freund J.** et al. Profound thrombocytopenia related to G-CSF // *Am. J. Hematol.* — 2007. — Vol. 82. — P. 229–230.

103. **Kotton D.N., Ma B.Y., Cardoso W.V.** et al. Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium // *Development.* — 2001. — Vol. 128, №24. — P. 5181–5188.

104. **Korbling M., Katz R.L., Khanna A.** et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells // *N. Engl. J. Med.* — 2002. — Vol. 346, №10. — P. 738–746.

105. **Krause D.S., Ito T., Fackler M.J.** et al. Characterization of murine CD34, a marker for hematopoietic progenitor and stem cells // *Blood.* — 1994. — Vol. 84, №3. — P. 691–701.

106. **Krause D.S., Theise N.D., Collector M.I.** et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell // *Cell.* — 2001. — Vol. 105, №3. — P. 369–377.

107. **Labar B.** Plasticity of hematopoietic stem cells // *Acta Med. Croatica.* — 2009. — Vol. 63, №3. — P. 227–230.

108. **Lagasse E., Connors H., Al-Dhalimy M.** et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo // *Nat. Med.* — 2000. — Vol. 6, №11. — P. 1229–1234.

109. **Lin H.** The stem-cell niche theory: lessons from flies // *Nat. Rev. Genet.* — 2002. — Vol. 3, №12. — P. 931–940.

110. **Lo Celso C., Fleming H.E., Wu J.W.** et al. Live-animal tracking of individual haematopoietic stem/progenitor cells in their niche // *Nature.* — 2009. — Vol. 457. — P. 92–96.

111. **Makita K., Ohta K., Mugitani A.** et al. Acute myelogenous leukemia in a donor after granulocyte colony-stimulating factor-primed peripheral blood stem cell harvest // *Bone Marrow Transplant.* — 2004. — Vol. 33. — P. 661–665.

112. **Manz M.G., Miyamoto T., Akashi K., Weissman I.L.** Prospective isolation of human clonogenic common myeloid progenitors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99, №18. — P. 11872–11877.

113. **Martin D., Cox N., Hathcock T., Niemeyer G., Baker H.** Isolation and characterization of multipotential

mesenchymal stem cells from feline bone marrow // Exp. Hematol. — 2002. — Vol. 30. — P. 879–886.

114. **Massberg S., Schaerli P., Knezevic-Maramica I.** et al. Immunosurveillance by hematopoietic progenitor cells trafficking through blood, lymph, and peripheral tissues // Cell. — 2007. — Vol. 131, №5. — P. 994–1008.

115. **Maximov A.** // Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen / Ed. W. Mollendorf. — Berlin, 1927.

116. **Meltzer E.B., Noble P.W.** Idiopathic pulmonary fibrosis // Orphanet Journal of Rare Diseases. — 2008. — Vol. 3. — P. 1–15.

117. **Metcalf D., Moore M.A.S.** Hemopoietic cells. N-H comp. — Amsterdam, 1971.

118. **Metcalf D.** Cell-cell signalling in the regulation of blood cell formation and function // Immunol. Cell. Biol. — 1998. — Vol. 76, №5. — P. 441–447.

119. **Metcalf D.** Concise review: hematopoietic stem cells and tissue stem cells: current concepts and unanswered questions // Stem. Cells. — 2007. — Vol. 25, №10. — P. 2390–2395.

120. **Moeller A., Ask K., Warburton D.** et al. The bleomycin animal model: a useful tool to investigate treatment options for idiopathic pulmonary fibrosis? // Int. J. Biochem. Cell Biol. — 2008. — Vol. 40, №3. — P. 362–382.

121. **Molineux G.** The design and development of pegfilgrastim // Curr. Pharm. Des. — 2004. — Vol. 10. — P. 1235–1244.

122. **Moodley Y., Atienza D., Manuelpillai U.** et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce fibrosis of bleomycin-induced lung injury // The American Journal of Pathology. — 2009. — Vol. 175. — P. 303–313.

123. **Moore K.A., Lemischka I.R.** Stem cells and their niches // Science. — 2006. — Vol. 31, №311 (5769). — P. 1880–1885.

124. **Morrison S.J., Weissman I.L.** The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype // Immunity. — 1994. — Vol. 1, №8. — P. 661–673.

125. **Muraglia A., Cancedda R., Quarto R.** Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate in vitro according to a hierarchical model // J. Cell Sci. — 2000. — Vol. 113. — P. 1161–1166.

126. **Nakahata T., Spicer S., Catney J., Ogawa M.** Clonal assay of mouse mast cell colonies in methylcellulose culture // Blood. — 1982. — Vol. 60. — P. 352–361.

127. **Novak J.P., Stewart C.C.** Stochastic versus deterministic in haemopoiesis: what is what? // Br. J. Haematol. — 1991. — Vol. 78, №2. — P. 149–154.

128. **Ogawa M.** Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells // Blood. — 1993. — Vol. 81, №11. — P. 2844–2853.

129. **Ogawa M.** Blast cell colony assays and LTC-IC assay (discussion) // Stem. Cells. — 1997. — Vol. 15. — Suppl. 1. — P. 197–198.

130. **Ohishi K., Katayama N., Shiku H.** et al. Notch signalling in hematopoiesis // Semin. Cell. Dev. Biol. — 2003. — Vol. 14, №2. — P. 143–150.

131. **Ortiz L.A., Gambelli F., McBride C.** et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2003. — Vol. 100. — P. 8407–8411.

132. **Patinkin D., Hidmi A., Weiss L.** et al. The effect of pegylated antisense acetylcholinesterase on hematopoiesis // Oligonucleotides. — 2003. — Vol. 13, №4. — P. 207–216.

133. **Pazianos G., Ugoezwa M., Reya T.** The elements of stem cell self-renewal: a genetic perspective // Biotechniques. — 2003. — Vol. 35, №6. — P. 1240–1247.

134. **Phinney D., Kopen G., Isaacson R., Prockop D.** Plastic adherent stromal cells from the bone marrow of commonly used strains of inbred mice: variations in yield,

growth, and differentiation // J. Cell. Biochem. — 1999. — Vol. 72. — P. 570–585.

135. **Piedmonte D.M., Treuheit M.J.** Formulation of Neulasta (pegfilgrastim) // Advanced Drug Delivery Reviews. — 2008. — Vol. 60. — P. 50–58.

136. **Pittenger M., Mackay A., Beck S.** et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells // Science. — 1999. — Vol. 284, №5411. — P. 143–147.

137. **Pittenger M., Mosca J., Mc Intosh K.** Human mesenchymal stem cells: progenitor cells for cartilage, bone, fat and stroma // Curr. Top. Microbiol. Immunol. — 2000. — Vol. 251. — P. 3–11.

138. **Pittenger M.F., Martin B.J.** Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics // Circ. Res. — 2004. — Vol. 95. — P. 9–20.

139. **Pochampally R., Neville B., Schwartz E.** et al. Rat adult stem cells (marrow stromal cells) engraft and differentiate in chick embryos without evidence of cell fusion // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2004. — Vol. 101. — P. 9282–9285.

140. **Rajan R.S., Li T., Aras M.** et al. Modulation of protein aggregation by polyethylene glycol conjugation: G-CSF as a case study // Protein Sci. — 2006. — Vol. 45. — P. 1063–1075.

141. **Reynolds B., Rietze R.** Neural stem cells and neurospheres — re-evaluating the relationship // Nat. Methods. — 2005. — Vol. 2. — P. 333–336.

142. **Rojas M., Xu J., Woods C.R.** et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung // American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. — 2005. — Vol. 33. — P. 145–152.

143. **Romanko M., Rothstein R., Levison S.** Neural stem cells in the subventricular zone are resilient to hypoxia/ischemia whereas progenitors are vulnerable // J. Cereb. Blood Flow. Metab. — 2004. — Vol. 24. — P. 814–825.

144. **Ruddell R.G., Oakley F., Hussain Z.** et al. // Am. J. Pathol. — 2006. — Vol. 169. — P. 861–876.

145. **Schofield R.** The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell // Blood Cells. — 1978. — Vol. 4, №1–2. — P. 7–25.

146. **Sekiya I., Larson B., Smith J.** et al. Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality // Stem Cells. — 2002. — Vol. 20. — P. 530–541.

147. **Shukla M.N., Rose J.L., Ray R.** et al. Hepatocyte growth factor inhibits epithelial to myofibroblast transition in lung cells via Smad7 // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. — 2009. — Vol. 40. — P. 643–653.

148. **Sicora M.A., Olszewski W.L.** Stem cells — biology and therapeutic application // Postepy Hig. Med. Dosw. — 2004. — Vol. 5. — P. 202–210.

149. **Simmons D.L., Satterthwaite A.B., Tenen D.G., Seed B.** Molecular cloning of a cDNA encoding CD34, a sialomucin of human hematopoietic stem cells // J. Immunol. — 1992. — Vol. 148, №1. — P. 267–271.

150. **Socolovsky M., Lodish H.F., Daley G.Q.** Control of hematopoietic differentiation: lack of specificity in signaling by cytokine receptors. Commentary // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1998. — Vol. 95. — P. 6573–6575.

151. **Spangrude G.L., Heimfield S., Weissman I.L.** Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells // Science. — 1988. — Vol. 241. — P. 58.

152. **Spradling A., Drummond-Barbosa D., Kai T.** Stem cells find their niche // Nature. — 2001. — Vol. 414, №6859. — P. 98–104.

153. **Strieter R.M.** What differentiates normal lung repair and fibrosis [text] // Proceedings of the American thoracic society. — 2008. — Vol. 5. — P. 305–310.
154. **Suda T., Arai F., Hirao A.** Hematopoietic stem cells and their niche // Trends Immunol. — 2005. — Vol. 26, №8. — P. 426–433.
155. **Sutherland H.J., Eaves C.J., Eaves A.C.** et al. Characterization and partial purification of human marrow cells capable of initiating long-term hematopoiesis in vitro // Blood. — 1989. — Vol. 74, №5. — P. 1563–1570.
156. **Szumilas P., Barcew K., Baskiewicz-Masiuk M.** et al. Effect of stem cell mobilization with cyclophosphamide plus granulocyte colony-stimulating factor on morphology of haematopoietic organs in mice // Cell Prolif. — 2005. — Vol. 38. — P. 47–61.
157. **Taichman R.S.** Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche // Blood. — 2005. — Vol. 105, №7. — P. 2631–2639.
158. **Theise N.D., Krause D.S.** Suggestions for a new paradigm of cell differentiative potential // Blood Cells Mol. Dis. — 2001. — Vol. 27, №3. — P. 625–631.
159. **Till J., McCulloch E.A.** Hemopoietic stem cell differentiation // Biochim. Biophys. Acta. — 1980. — Vol. 605. — P. 431–459.
160. **Toma J., Akhavan M., Fernandes K.** et al. Isolation of multipotent adult stem cells the dermis of mammalian skin // Nat. Cell Biol. — 2001. — Vol. 3. — P. 778–784.
161. **Toma C., Pittenger M.F., Cahill K.S.** et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart // Circulation. — 2002. — Vol. 105. — P. 93–98.
162. **Tong Yin, Linheng Li.** The stem cell niches in bone // J. Clin. Invest. — 2006. — Vol. 116. — P. 1195–1201.
163. **Trentin J.** Determination of bone marrow stem cell differentiation by stromal hemopoietic inductive microenvironment (HIM) // Amer. J. Path. — 1971. — Vol. 65. — P. 621–628.
164. **Vereschagin E.I., Khan Do-Hung** et al. Radiation Technology in the Preparation of Polyethylene Oxide Hydrophilic Gels and Immobilization of Proteases for Use in Medical Practice // Arch. Pharm. Res. — 2001. — Vol. 24, №3. — P. 229–233.
165. **Vogel G.** Swedish research. New stem cell fund raises hackles // Science. — 2002. — Vol. 298, №5593. — P. 517.
166. **Wagers A.J., Sherwood R.I., Christensen J.L., Weissman I.L.** Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells // Science. — 2002. — Vol. 297. — P. 2256–2259.
167. **Wagner W., Horn P., Bork S., Ho A.D.** Aging of hematopoietic stem cells is regulated by the stem cell niche // Exp. Gerontol. — 2008. — Vol. 43, №11. — P. 974–980.
168. **Wakitani S., Saito T., Caplan A.I.** Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine // Muscle Nerve. — 1995. — Vol. 18. — P. 1417–1426.
169. **Warejcka D., Harvey R., Taylor B.** et al. A population of cells isolated from rat heart capable of differentiating into several mesodermal phenotypes // J. Surg. Res. — 1996. — Vol. 62. — P. 233–242.
170. **Watt F.M., Hogan B.L.** Out of Eden: stem cells and their niches // Science. — 2000. — Vol. 287, №5457. — P. 1427–1430.
171. **Weber J.M., Forsythe S.R., Christianson C.A.** et al. Parathyroid hormone stimulates expression of the Notch ligand Jagged1 in osteoblastic cells // Bone. — 2006. — Vol. 39, №3. — P. 485–493.
172. **Wilson A., Trumpp A.** Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches // Nature Rev. Immunol. — 2006. — Vol. 6. — P. 93–106.
173. **Wilson M.S., Wynn T.A.** Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulation // Mucosal Immunology. — 2010. — Vol. 2. — P. 103–121.
174. **Wu J.Y., Scadden D.T., .** Role of the osteoblast lineage in the bone marrow hematopoietic niches // J. Bone Miner. Res. — 2009. — Vol. 24, №5. — P. 759–764.
175. **Xie Y., Yin T., Wiegraebe W.** et al. Detection of functional haematopoietic stem cell niche using real-time imaging // Nature. — 2009. — Vol. 457. — P. 97–101.
176. **Yamashita J., Itoh H., Hirashima M.** et al. Flk1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors // Nature. — 2000. — Vol. 408. — P. 92–96.
177. **Yokoo T., Ohashi T., Shen J.** et al. Human mesenchymal stem cells in rodent whole-embryo culture are reprogrammed to contribute to kidney tissues // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2005. — Vol. 102. — P. 3296–3300.
178. **Young H., Mancini M., Wright R.** et al. Mesenchymal stem cells reside within the connective tissues of many organs // Develop. Dyn. — 1995. — Vol. 202. — P. 137–144.
179. **Zamboni W.C.** Pharmacokinetics of pegfilgrastim // Pharmacotherapy. — 2003. — Vol. 23. — P. 9–14.
180. **Zhao R.C., Liao L., Han Q.** Mechanisms and perspectives on the mesenchymal stem cell in immunotherapy // J. Lab. Clin. Med. — 2004. — Vol. 143. — P. 284–291.
181. **Zhang J., Niu C., Ye L.** et al. Identification of the haematopoietic stem cells niche and control of the niche size // Nature. — 2003. — Vol. 425. — P. 836–841.
182. **Zhang M., Guo Z., Liu X.** et al. Development of methodology for isolation and culture of mesenchymal stem cells derived from mouse skeletal muscle // Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. — 2003. — Vol. 11. — P. 538–541.
183. **Zuk P., Zhu M., Ashjian P.** et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells // Mol. Biol. Cell. — 2002. — Vol. 13. — P. 4279–4295.

Поступила 17.01.12

Сведения об авторе:

Дыгай Александр Михайлович — д-р мед. наук, проф., акад. РАМН, дир. ФГБУ НИИФ СО РАМН