

УДК 616.1.9

©Коллектив авторов

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ. МЕХАНИЗМЫ ВЫЖИВАЕМОСТИ И РОЛЬ МИКРОБИОТЫ

С.Я. Проскуряков^{1}, А.Г. Коноплянников², Л.П. Ульянова¹, Д.Ю. Логунов²,
Б.С. Народицкий², А.Л. Гинцбург²*

¹ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, 249036, Обнинск,
ул. Королева, 4; факс: +7(095)956-1440, эл. почта: po0@mrnc.obninsk.ru

²ГУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им.
почетного академика Н.Ф. Гамалеи РАМН, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18;
факс: (499)193-6135, электронная почта: LDenisY@yandex.ru

Танатогенные механизмы стволовых клеток (СК) быстрообновляющейся системы эпителия кишечника до сих пор остаются малопонятными. С одной стороны, несомненна их роль в фундаментальных механизмах канцерогенеза в желудочно-кишечном тракте, поскольку дисрегуляция программ элиминации “нежелательных”, мутантных клеток, выходящих из под иммунного и собственного контроля, является одной из причин неопластической экспансии.

С другой стороны, с задачей расшифровки устройства аппарата управления выживаемостью СК связаны практические запросы медицины, среди которых, повышение эффективности терапии воспалительных и язвенных поражений кишечника, травматических и хирургических ран, а также ограничение посторонних эффектов в нормальных тканях, вызванных применением интенсивных методов химио- и радиотерапии онкологических заболеваний. Особенно это относится к лечению заболеваний крови и новообразований в органах брюшной полости, главным образом, вследствие поражения костного мозга и эпителия кишечника, как наиболее чувствительных к этим воздействиям тканей.

В обзоре представлены данные о экзогенных и генетических модификаторах выживаемости СК, а также основные представления о механизмах управляющих обменом и восстановлением СК и влиянием микробиоты на эти процессы..

Ключевые слова: эпителий кишечника, стволовые клетки, клоногенные клетки крипт, модификаторы гибели/выживаемости, Wnt - β -катенин сигнальный путь

Принятые сокращения: СК – стволовые клетки, мСК – мультипотентные стволовые клетки, ККК – клоногенные клетки крипт, TGF – трансформирующий фактор роста, KGF – фактор роста кератиноцитов, IL – интерлейкин, SCF – фактор стволовых клеток, FGF – фактор роста фибробластов, TNF – фактор некроза опухоли, TNFR – рецептор фактора некроза опухолей, IFN – интерферон, LPS – липополисахарид, PGE2 – простагландин E2, НММ – N-метил-N-нитрозомочевина, АИ – азотистый иприт, бис-(2-хлорэтил)-метиламин, 5-ФУ – 5-фторурацил, ММС – метилметансульфонат, PFT – пифитрин, ДНК-ПК – ДНК-протеинкиназа, PARP – поли(ADP-рибозо)-полимераза, NF κ B – ядерный фактор каппа В, iNOS – индуцируемая синтаза оксида азота, Cox – циклооксигеназа, EGFR – рецептор эпидермального фактора роста, HMGB1 – высокомолекулярный гистон В1, BMP – морфогенетический белок костей, Gsk-3 β – киназа гликогенсинтазы-3 β .

* – адресат для переписки

ВВЕДЕНИЕ. Последнее десятилетие, начавшееся в биологии после принципиальной расшифровки генома человека, характеризуется взрывным интересом к “стволовым” клеткам (СК) и как к источнику для получения клонов многоклеточных организмов, и как основе для регенеративной медицины и терапии поврежденных и патологически измененных органов и тканей человека. В последнем случае особое внимание уделяется так называемым, в соответствии с принятой иерархической структурой и свойствами СК, мультипотентным стволовым клеткам (мСК), т.е. СК зрелых тканей [1, 2].

Наибольший экспериментальный материал и непротиворечивые концепции самообновления, пролиферации и созревания СК были получены на образцовых для биологии моделях червей и насекомых. Гистологически и биохимически были изучены СК яичников и семенников *Drosophila* и герминальных клеток гермафродитных гонад *Caenorhabditis elegans*, а также особые образования, содержащие СК, - “ниши” СК [3]. У млекопитающих такие клеточные структуры были обнаружены и в быстро обменивающихся тканях, и в постмитотических [4]: костный мозг [5, 6], волосяные фолликулы [7], семенники, мышцы, мозг [8].

Однако, несмотря на интенсивные исследования, многие свойства СК такой быстрообновляющейся ткани как кишечный эпителий, остаются до сих пор неясными или дискуссионными, главным образом, по причине отсутствия надежных фенотипических маркеров, позволяющих идентифицировать и изолировать эти клетки, и адекватных культуральных моделей *in vitro* [9]. Поэтому основным источником данных, полученных к настоящему времени, являются эксперименты, анализирующие косвенные функциональные характеристики СК, включая способность крипт к регенерации после экспозиции к цитотоксическим воздействиям (ионизирующая радиация, противоопухолевые препараты), поглощение и включение меченых предшественников ДНК [10, 11], частота мутантных крипт в химерных мышах [12] или после действия мутагенов [13-15]. Точность получаемых оценок, их интерпретация и анализ соответствия друг другу затрудняются не только вполне определенными ограничениями *in vivo* методов, но и существенным влиянием условий опыта: применение повреждающих воздействий, резекция кишечника, лактация, возраст, диета, микробиота и др. [16, 17]. Дискуссионность этой экспериментальной ситуации характеризуют оценки численности СК по данным разных авторов: ни одной [18, 19], одна [20], до нескольких десятков [21-23].

Вместе с тем расшифровка механизмов клиренса, самообновления, созревания и дифференцировки СК эпителия кишечника лежит в основе решения многих актуальных задач биологии и медицины. Среди них - прояснение закономерностей канцерогенеза в этой ткани, повышение эффективности терапии воспалительных и язвенных поражений кишечника, травматических и хирургических ран, а также ограничение побочных эффектов в нормальных тканях кишечника, вызванных применением интенсивных методов химио- и радиотерапии онкологических заболеваний. Основная причина таких побочных эффектов связывается в настоящее время с гибелью содержащихся в этих тканях гемопоэтических и эпителиальных СК [24-27].

Поэтому в настоящем обзоре делается попытка систематизации теоретических и экспериментальных данных о реакциях СК на стрессовые воздействия, механизмах, определяющих их гибель/выживание, и роли в этом микроокружения СК – “ниши”, а именно, крипты кишечного эпителия.

1. КРИПТЫ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ, КАК “НИША” ДЛЯ СТОЛОВЫХ И ИСТОЧНИК ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК.

Традиционная, но не единственная схема строения крипты (крипты Люберкюна – углубления в поверхности эпителия кишечника) представлена на рисунке 1. Эта зональная модель крипты, как источника дифференцированных клеток, выстраивающих эпителий кишечника, была предложена в 70-х гг. прошлого века [28]. В эпителии тонкого кишечника присутствует 5 видов

специализированных клеток: абсорбционные (цилиндрические) клетки - энтероциты, бокаловидные (слизистые) клетки, энтероэндокринные (аргентофильные) клетки (менее 1% клеточной популяции эпителия) и клетки Пенета, занимающие дно большинства крипт [29]. М-клетки встречаются в областях эпителия богатых лимфоцитами. Все эти терминально дифференцированные клетки удаляются путем эксфолиации и постоянно замещаются новыми в результате пролиферации особого пула клеток (истинные СК или мультипотентные стволовые клетки, мСК) в отделе, занимающем нижние две трети крипты по её оси и отделенном более узким перешейком от верхней части [30].

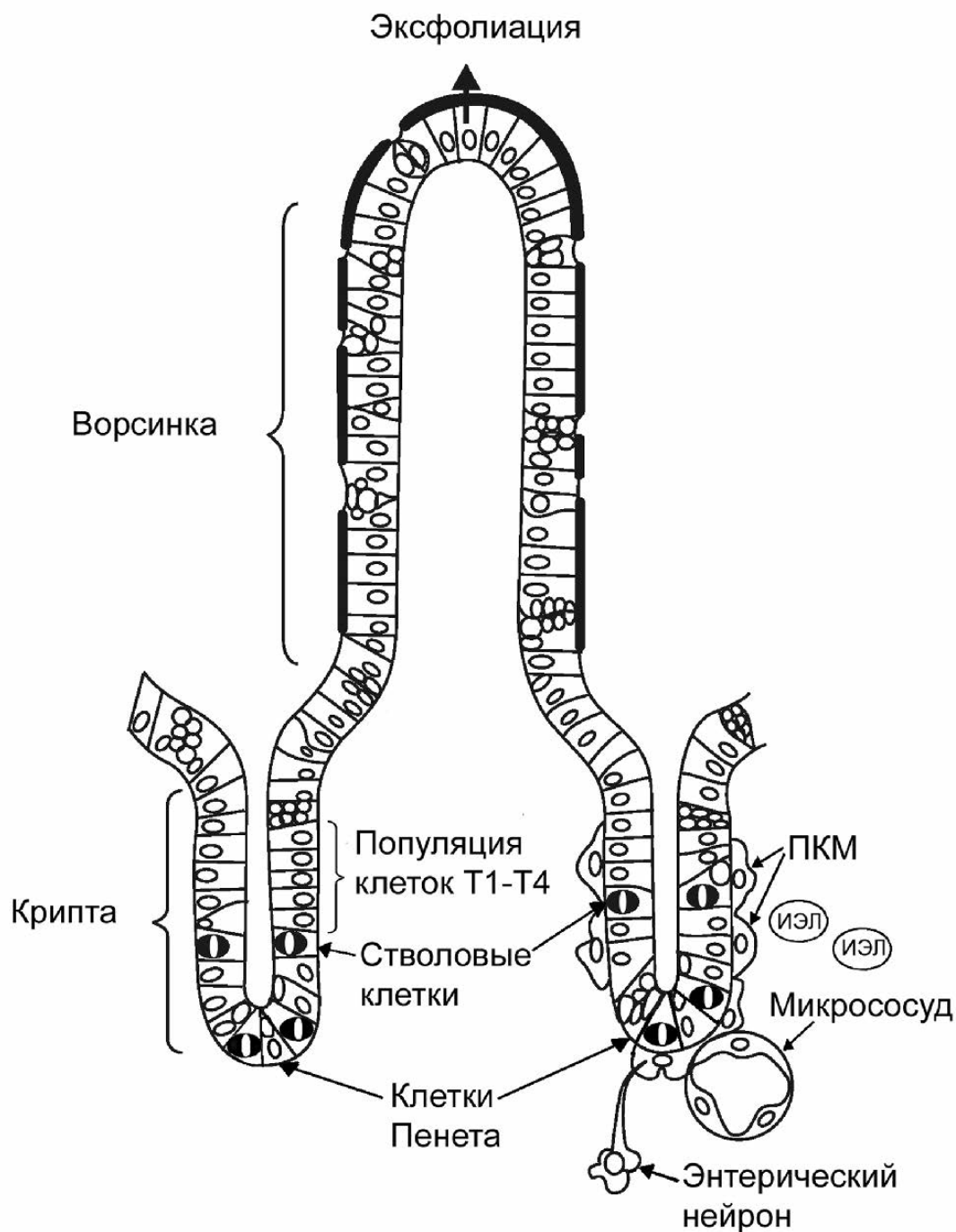


Рисунок 1.

Строение крипты эпителия кишечника млекопитающих. ПКМ – перикрипальные миофибробласты, ИЭЛ – интраэпителиальные лейкоциты.

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ

мСК в количестве 4-6 клеток расположены над клетками Пенета и обладают высокой чувствительностью к цитотоксическому воздействию. Путём симметричного и ассиметричного деления они производят резистентные дочерние клетки Т1-Т4. Эти клетки на протяжении нескольких генераций сохраняют способность к самовоспроизведению и, вероятно, к дедифференцировке в мСК. Такие свойства “обратимости” ранних потомков стволовых клеток обнаружены для СК эпителия кожи и волосяных фолликул [31]. В дальнейшем мы будем употреблять термин - **клоногенные клетки крипт (ККК)**, учитывая то, что регенерацию крипты может обеспечивать не только “истинная” стволовая клетка, но и ее ранние потомки.

Число генераций зависит от направления дифференцировки и для цилиндрических клеток, предшественников энтероцитов, составляет 3-4 генерации, а для секретирующих клеток 1-2 генерации [32].

На рисунке 2 показана одна из новейших схем пролиферации, созревания и дифференцировки стволовых клеток крипты. В интактных животных мСК обеспечивают собственное самовоспроизведение, а также продуцируют уни- и олигопотентные предшественники адсорбирующих клеток - энтероцитов (C_0) и эндокринных клеток (M_0): клетки Гоблета (слизистые, бокаловидные), энтероэндокринные клетки и клетки Пенета. М-клетки - специфическая компонента участков эпителия, покрывающего Пейеровы бляшки, - на схеме не указаны. Их происхождение остается дискуссионным: либо из M_0 , либо из зрелых энтероцитов путем трансдифференцировки [33, 34]. C_0 и M_0 – долгоживущие (месяцы) клоны предшественников энтероцитов и секретирующих клеток, а кмСК – короткоживущая (дни) популяция, способная генерировать таких же короткоживущих, быстропролиферирующих потомков C_1 и M_1 [35].

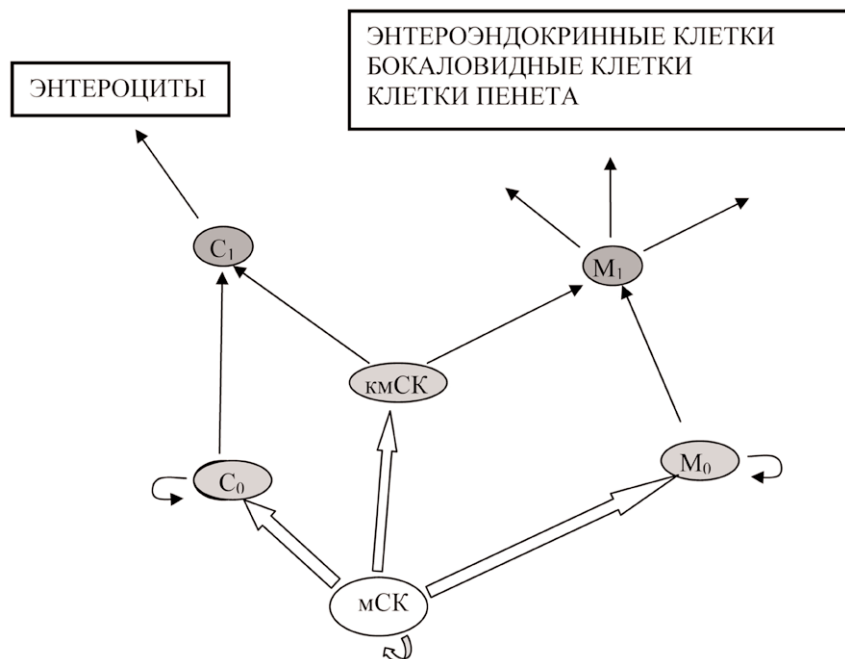


Рисунок 2.

Одна из теоретических схем путей дифференцировки эпителиоцитов. В интактных животных мультипотентные стволовые клетки (мСК) обеспечивают собственное самовоспроизведение, а также продуцируют уни- и олигопотентные предшественники энтероцитов (C_0) и эндокринных клеток (M_0): бокаловидные клетки (клетки Гоблета), энтероэндокринные клетки и клетки Пенета.

кмСК – короткоживущая (дни) популяция, способная генерировать короткоживущих, быстропролиферирующих потомков - C_1 и M_1 . М-клетки - специфическая компонента участков эпителия, покрывающего Пейеровы бляшки, на схеме не указаны. Их происхождение остается дискуссионным: либо из M_0 , либо из зрелых энтероцитов путем трансдифференцировки [33, 34]. Вероятно, субпопуляции кмСК, C_0 , M_0 , M_1 , C_1 соответствуют популяции Т1-Т4 популяции клеток на рисунке 1.

Гомеостатическое взаимодействие СК, их созревающих потомков и микроокружения крипты (эндотелий микрососудов, энтерические нейроны, перикрипальные фибробласты, интраэпителиальные лейкоциты) создает сложную клеточную систему, в которой механизмы ответа на появление “нежелательных” (поврежденных/мутантных) клеток, на стрессовые воздействия далеко не всегда представляется возможным соотнести с определенной популяцией клеток, приемлемой в качестве фармакологической мишени. В следующем разделе это будет продемонстрировано характерными примерами.

2. МОДИФИКАТОРЫ ВЫЖИВАЕМОСТИ/ ГИБЕЛИ КЛОНОГЕННЫХ КЛЕТОК КРИПТЫ.

Наиболее обстоятельный материал о механизмах танатогенных реакций ККК эпителия кишечника получен главным образом с использованием генотоксических воздействий в форме ионизирующего излучения, противоопухолевых препаратов и цитокинов [36] (табл. 1). Действие ионизирующего излучения на кишечник было описано уже через 2 года после открытия X-лучей [37]. А в начале 70-х годов следующего (XX) столетия были предложены доступные и воспроизводимые методики регистрации опустошения и регенерации крипт эпителия кишечника грызунов, позволяющие адекватную оценку гибели/выживаемости ККК [10, 11]. Диапазон доз рентгеновского и гамма-излучения для изучения судьбы ККК в таких экспериментах определяется тем, что оголение крипты (через 3,5 дня после воздействия), т.е. гибель в некоторых криптах всех клоногенных клеток начинается при дозах > 8 Гр, при дозах >15 Гр достаточного для верификации числа регенерирующих крипт без применения протекторных агентов затруднено [12].

Таблица 1. Экзогенные модификаторы выживаемости стволовых клеток эпителия кишечника.

Модификатор	Воздействие	Эффект	Критерий	Литература
Интерлейкин 1α	γ-излучение, цис-платина, цилофосфамид	↑↑	Микроколонии (мк)	[39-41]
Интерлейкин-11	γ-излучение	↑	мк, выживаемость животных (вж)	[42, 43]
Интерлейкин-12	γ-излучение	↓↓	мк	[44]
Фактор стволовых клеток	γ-излучение	↑	мк, вж	[45].
Факторы роста фибробластов	γ-излучение	↑	мк, вж	[46-49]
Трансформирующий фактор роста	γ-излучение	↑↑	мк, вж	[50]
Фактор роста кератиноцитов	γ-излучение, метотрексат, 5-ФУ	↑↑	мк, вж, гистология	[51, 52]
Липополисахарид	γ-излучение	↑↑	мк, вж	[53]

Примечание. ↑, ↑↑ - умеренная и сильная протекция; ↓, ↓↓ - слабая и существенная сенсibilизация.

Мощными экзогенными модификаторами выживаемости/гибели ККК оказались эпителиальные факторы роста (TGFβ, KGF) и цитокины, связанные с гемопоэзом и иммунными функциями (IL-1, SCF и IL-11, IL-12), обычно в форме рекомбинантных полипептидов человека [38].

Интерлейкин-11 (IL-11) представляет собой плейотропный цитокин, впервые идентифицированный в кондиционной среде культивирования линии стромальных клеток приматов, и в настоящее время применяемый для лечения тромбоцитопении у онкологических больных. От трех до 5 инъекций этого

цитокина (100 мкг/кг) увеличивали выживаемость ККК в 1,5 раза при дозе облучения 12 Гр. Защитное действие IL-11 также оказывал на крипты кишечника (*ileum*) животных, обработанных 5-фторурацилом [42]. IL-11 вместе с тромбopoэтином (ТРО) синергически увеличивал выживаемость животных при дозе 10 Гр. Можно полагать, что частично этот эффект был связан с усилением регенерации кишечного эпителия и, соответственно, выживаемости ККК [43].

Интерлейкин-12 (IL-12), секретируемый моноцитами/макрофагами и лимфоцитами под действием бактериальных продуктов, играет важную роль в генерации T1 класса хелперов и синергически с другими ростовыми факторами стимулирует увеличение числа и размера гемопоэтических колоний, что отражает активацию ранних предшественников гемопоэза. Вместе с тем, цитокин подавляет клоногенную активность злокачественных клеток, т.е. рост и метастазирование злокачественных новообразований. На клоногенную активность ККК IL-12 также оказывал ингибирующее действие. Об этом свидетельствовало существенное уменьшение числа регенерирующих крипт и двукратное снижение продолжительности жизни мышей, получавших цитокин (1 мкг/мышь) либо за 18 ч до облучения, либо через 1 ч после. Антитела к интерферону-гамма (aIFN- γ) отменяли сенсibilизирующий эффект [44].

Фактор стволовых клеток (SCF), введенный мышам за 8 ч до облучения (100 мкг/кг, 12 Гр), увеличивал выживаемость крипт в 1,3 раза и примерно во столько же раз увеличивал дозу 50% гибели животных, LD_{50/6} [45].

Факторы роста фибробластов (FGF) являются семейством гепарин-связывающих полипептидов, оказывающих митогенное действие на клетки мезенхимального, нейронального и эпителиального происхождения и участвуют в процессах дифференцировки, морфогенеза и заживления. FGF2 (bFGF, основной фактор роста фибробластов) экспрессируется через 1-3 суток после облучения (13 Гр) и как мРНК и как белок, который главным образом локализуется в мезенхиме, окружающей регенерирующие крипты.

Введение мышам рекомбинантного человеческого FGF1 или FGF2 (6-18 пг/мышь) за 24 ч до облучения или через 1 ч после увеличивало число выживших крипт, по сравнению с контрольными животными, хотя в последних эти 2 полипептида сами по себе существенно снижали число крипт [47]. Возможно это было связано с арестом ККК в G2-фазе цикла [48].

Более детальное исследование FGF2 показало, что эффект не связан с прямым действием FGF2, так как его рецепторы присутствуют только в эндотелии микрососудов, окружающих крипты. В эндотелиальных клетках FGF2 ингибировал активность кислой сфингомиелиназы (aSM), продуцирующей известный танатогенный медиатор – церамид. Учитывая, что в эпителии кишечника рецепторы для FGF2 не экспрессированы, а кислая сфингомиелиназа представлена в эндотелии сосудов в количестве, почти в 20 раз большем, чем в других тканях, было предположено, что первичная причина опустошения слизистой кишечника и соответственно, гибели СК эпителия, заключена в ранней апоптотической деструкции эндотелия микрососудов. Морфологически защитное действие FGF2 выражалось в ограничении сморщивания крипт, но не в ускорении их регенерации [49]. Вместе с тем следует отметить, что радиопротективный эффект FGF1 и 2 зависит от линии мышей [46].

Трансформирующие факторы роста (TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3) являются известными ингибиторами пролиферации эпителиальных клеток, останавливая их в G1-фазе клеточного цикла. Экзогенный TGF β 3 (100 мкг/кг), введенный мышам за 24, 8, 4 ч до облучения и сразу после него, существенно увеличивал число выживших крипт в тонком кишечнике, в зависимости от дозы облучения, в 3-11 раз. В толстом кишечнике этот эффект был менее заметен (до 2,5 раз) [50].

Видимо, как защитная реакция, TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3, TNF α , IL-6 и IFN- γ , экспрессировались в эпителии кишечника в ближние и отдаленные сроки после облучения [54].

Фактор роста кератиноцитов (KGF) стимулирует репаративные процессы, как было показано в модели колита, а также заживление ран. Однако протективное действие на эпителий кишечника он оказывает лишь при введении до облучения, увеличивая при дозе 14 Гр число выживших крипт в 3,5 раза. Поскольку его рецептор экспрессируется на всех эпителиальных клетках, то, видимо, KGF оказывает прямое действие на выживаемость ККК, возможно, через индукцию неселеновой глутатионпероксидазы [51]. Однако, следует заметить, что у мышей, дефицитных по глутатионпероксидазе 1 ($Gpx1^{-/-}$), крипты были более резистентны к облучению, чем у нормальных мышей [55]. С защитным действием KGF могут быть связаны также эффекты увеличения популяции ККК и/или их накопления в S-фазе клеточного цикла [52]. Сочетание с KGF фактора стволовых клеток не увеличивало резистентности крипт [56].

Липополисахарид (LPS), компонент клеточной мембраны грамотрицательных бактерий, один из наиболее известных и мощных модификаторов выживаемости клеток млекопитающих, в частности, гемопоэтических клоногенных клеток *in vivo* [57]. Но лишь в последнее время были выяснены некоторые детали его действия на ККК [53]. Сигнальная цепь выглядит следующим образом: LPS (0,15-1,5 мг/кг) увеличивает экспрессию фактора некроза опухоли ($TNF-\alpha$) в ткани тонкого кишечника (точный клеточный источник не идентифицирован) почти в 4 раза, который, связываясь с рецептором ($TNFR1$) на перикрипальных миофибробластах и/или энтероцитах ворсинок, вызывает синтез $Coх-2$ и простагландина PGE_2 в этих клетках. В этой цепи находится и РНК-связывающий белок Аробес-1 [58]. Следует отметить, что в клетках, образующих крипту и имеющих $TNFR1$, PGE_2 не синтезируется под действием LPS. Подобный эффект наблюдается и в энтероцитах мышей, экспрессирующих мутантный Аробес-1. Увеличение выживаемости ККК под действием простагландина связывается с ингибированием механизмов апоптотической деструкции и остановкой в G2-фазе клеточного цикла, что дает время для прохождения репаративных процессов [59]. Возможно, определенную роль в антитапаногенном действии LPS может играть его способность ингибирования апоптоза путем подавления активности p53 [60].

Среди низкомолекулярных стимуляторов выживаемости ККК обнаружены диметилсульфоксид – инактиватор радикалов OH^\cdot ; ретиноевая кислота – индуктор дифференцировки [61]. Ингибиторы сАМР-фосфодиэстеразы (диэтиламино-1-резерпин, 1-метил-3-изобутил-ксантин, теofilлин и кофеин) в 6-7 раз увеличивали число регенерирующих крипт по сравнению с контролем [62]. Синтетический аналог простагландина E2 – 16,16-диметил PGE_2 ($dmPGE_2$) – увеличивал выживаемость крипт в 4 раза при дозе облучения животных 15 Гр [63]. Но особый интерес вызывают два, можно сказать, противоположных по действию агента: противовоспалительный препарат индометацин, промотирующий гибель стволовых эпителиоцитов, и азоксиметан – канцерогенный агент, способствующий их выживанию [64].

Индометацин, неселективный ингибитор циклооксигеназ 1 и 2 ($Coх-1$, $Coх-2$), снижал содержание простагландина PGE_2 и в интактных животных, и в облученных, хотя в последних уровень $Coх-1$ увеличивался после воздействия. Обработка животных препаратом (1 мг/кг, через час после облучения и каждые 8 ч в течение 3 суток) привела к существенному уменьшению выживаемости крипт, при 12 Гр на 62%, 14 Гр – 71%, 16 Гр – 89%. Селективные ингибиторы $Coх-2$ не влияли на выживаемость крипт в облученных мышах, так же как и дефицит генов, кодирующих этот фермент ($Coх-2^{-/-}$). Однако нейтрализующие антитела к PGE_2 и $Coх-1^{-/-}$ -генотип снижали выживаемость крипт [65]. Анализ полученных данных показал, что простагландины включаются в танатогенные механизмы ККК только в поврежденном эпителии, в условиях стрессовой реакции на цитотоксическое воздействие [66].

Азоксиметан – известный индуктор опухолей толстого кишечника грызунов, является метаболитом другого канцерогена, 1,2-диметилгидразина. Число выживших крипт у мышей, получивших азоксиметан за 8 ч до облучения (12 Гр)

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ

было в 2,5 раза больше, чем у контрольных. Этот эффект отменялся индометацином и в мышах (*Cox-1^{-/-}*). Анализ показал, что канцероген простагландин-зависимым образом ингибирует клеточный цикл в клоногенных клетках. В отсутствие PGE₂ клетки накапливаются в митозе (митотические фигуры часто TUNEL-позитивны) как результат “митотической катастрофы” [67].

Эксперименты на трансгенных мышах, связанные с исследованием программ выживаемости ККК, пока немногочисленны. И кроме того, они по большей части основываются на регистрации апоптотических событий в эпителии крипт, которые далеко не всегда имеют отношение к выживаемости клоногенных клеток [68, 69]. Тем не менее для ряда генов (*p53*, *p21*, *ATM*, *Ku80*, *PARP-1*, *Msh2*), имеющих непосредственное отношение к репарации ДНК, показана их существенная роль в регуляции программ выживания СК (табл. 2).

Таблица 2. Генетические детерминанты выживаемости клоногенных клеток кишечного эпителия.

Генотип	Воздействие	Эффект	Критерий	Литература
<i>p53</i> (-/-)	10-18 Гр	~	МК	[71]
<i>Bcl-2</i> (-/-)	10-18 Гр	~	МК	[73]
<i>p53</i> (-/-)		⇓	Число Br-UdR меченых клеток в крипте	[74]
<i>p21</i> (-/-)	15 Гр	↓		
<i>Ku80</i> (-/-)	8 Гр	⇓	Оголение крипт	[75]
<i>Msh2</i> (-/-)	НММ	↑↑	МК	[68]
	АИ	~		
	цис-Платина	~		
<i>p53</i> (-/-)	НММ (150 мг/кг)	~		
	АИ (10 мг/кг)	~		
	цис-Платина (15 мг/кг)	↑↑		
<i>p53</i> (-/-), <i>Msh2</i> (-/-)	цис-Платина (10 мг/кг)	↑		
<i>p53</i> (-/-)	5-ФУ (400 мг/кг)	↑	МК	[76]
<i>PARP</i> (-/-)	6 Гр	⇓	Утрата и укорочение ворсинок	[77]
<i>PARP</i> (-/-)	5-14 Гр	⇓	МК	[78]
<i>Atm</i> (-/-)	6-18 Гр	⇓⇓	МК	[79]
<i>Brcd2</i> (-/-)	цис-Платина (10 мг/кг)	⇓	МК	[80]
	Митоминин С (15 мг/кг)	⇓		
	15 Гр	~		
<i>p50</i> (-/-)	12 Гр	↓	МК	[81]
<i>Cav-1</i> (-/-)	15 Гр	⇓	Деструкция крипт	[82]
<i>Cox-1</i> (-/-)	14 Гр	⇓	МК	[65]
<i>Cox-2</i> (-/-)	14 Гр	~		

Примечание. ~ - отсутствие достоверного эффекта; НММ - N-метил-N-нитрозомочевина; АИ - азотистый иприт, бис-(2-хлороэтил)-метиламин; ММС - метилметансульфонат; 5-ФУ - 5-фторурацил.

Продукт гена *p53*, иногда называемый “гвардейцем генома”, был изучен одним из первых, как индуктор апоптотической формы деструкции клеток крипт кишечника [70, 67]. Но на выживаемость крипт делеция этого гена оказывала различный эффект: в тонком кишечнике выживаемость не изменялась, хотя дегенерация и восстановление замедлялись, а в толстом кишечнике выживаемость была ниже, по сравнению с выживаемостью крипт родительского типа мышей [71]. На уровень спонтанного апоптоза (5-10%) в нижней части крипт отсутствие *p53* не влияло [72].

Однако недавние эксперименты не подтвердили этих данных. В *p53*^{-/-} мышцах наблюдалось ускоренное разрушение крипт в тонком кишечнике по критерию численности BrdU-меченых клеток, в отличие от гетерозигот и родительского типа (*p53*^{+/-}, *p53*^{+/+}). Вероятно, без этого “гвардейца генома” ККК не могли останавливаться в цикле для репарации и претерпевали митотическую катастрофу. Мыши, дефицитные по гену *p21*, кодирующему ингибитор циклин-зависимой киназы, также погибали раньше родительского типа от разрушения кишечного эпителия, что подтверждает существенную роль *p53* (активатора транскрипции *p21*) в репарации клеточных повреждений путем блокирования цикла. Следует отметить, что однократное введение родительскому типу мышей пифитрина α (PFT α) - низкомолекулярного ингибитора *p53*, не влияло на чувствительность крипт к облучению [74]. А вот для энтеротоксина 5-ФУ мыши с генотипом *p53*^{-/-} были более устойчивы по критериям размеров и клеточности ворсинок и крипт [76].

Мыши с генотипами - *Bcl-2*^{-/-}, *Bcl-2*^{+/-} и *Bcl-2*^{+/+}, облученные в дозе 15 Гр, не имели отличий в выживаемости крипт [73].

Ku80 – компонент ДНК-связывающего гетеродимера в ДНК-протеинкиназе (ДНК-ПК), необходимом участнике репарации двойных разрывов ДНК. Среди ряда транскрипционных факторов одним из субстратов ДНК-ПК является опухолевый супрессор *p53*. Ku80 в большей степени экспрессируется в быстропролиферирующих клетках и его дефицит выражается в клеточных и физиологических дефектах. В частности, при дозах более 4 Гр животные с генотипом *Ku80*^{-/-} умирали от острого поражения желудочно-кишечного тракта. При дозе 8 Гр через 4 дня наблюдалось опустошение крипт и укорочение ворсинок, что свидетельствовало о гиперчувствительности ККК к повреждениям, вызванным ионизирующей радиацией, вероятно, в результате существенных нарушений в механизмах репарации [75].

Msh2 (*Escherichia coli* mutS homologue 2) – один из генов семейства, обеспечивающего репарацию неспаренных оснований ДНК и участвующего в рекомбинационных процессах. Делеция этого гена существенно увеличивала резистентность ККК эпителия кишечника к НММ, но не влияла на чувствительность к другим генотоксическим противоопухолевым препаратам, АИ и цисплатине. В тех же экспериментальных условиях у животных с генотипом *p53*^{-/-} НММ и АИ не оказывали эффекта, отличного от контрольных животных, но к обработке цисплатиной крипты этих животных оказались существенно более устойчивыми [68]. Подобный эффект наблюдался и при обработке животных 5-ФУ [76].

PARP-1 (поли(ADP-рибозо)-полимераза) ключевой фермент репарации разрывов нитей ДНК. Она высоко экспрессирована в пролиферирующих клетках и катализирует посттрансляционное поли-ADP-рибозилирование ядерных белков и самой себя. Специфические домены связывания полимера ADP-рибозы найдены у *p53*, *p21*, ДНК-ПК, NFκB, iNOS и других важных для репарации белков. PARP также обнаружена в составе комплекса β-катенин/Tcf4/Ku70, регулирующего пролиферативную активность ККК [83]. Мыши, лишённые *PARP-1*, были гиперчувствительными к облучению (8 Гр) и гибли от острого поражения эпителия кишечника в течение нескольких дней. О существенном нарушении репарации ККК свидетельствовало раннее укорочение ворсинок и их утрата, а также оголение крипт [77, 78].

ATM – ген, несущий мутации у пациентов с атаксией-телангиэктазией и сопровождающийся у млекопитающих с повышенной предрасположенностью к неоплазии, учащением хромосомных aberrаций и другими клеточными и физиологическими дефектами. Он является главным регулятором p53-зависимой реакции на радиационные повреждения, регулируя фосфорилирование этого белка. Блокирование экспрессии ATM заметно увеличивало чувствительность крипт к ионизирующей радиации (10 Гр). По-видимому, это было обусловлено существенным возрастанием синтеза церамида (в 2-3 раза) в эпителии кишечника. Эти данные подтверждаются экспериментами на мышах с генотипом *Smpd1*^{-/-}. Выключение этого гена, кодирующего кислую сфингомиелиназу, фермент продуцирующий церамид – известный танатогенный медиатор, увеличивало резистентность крипт к радиационному повреждению (16 Гр), хотя источником церамида были эндотелиальные клетки [79].

Brca2 – еще один ген, мутации в котором у человека предрасполагают к раку молочной железы. Его продукт участвует в гомологичной рекомбинации ДНК, процессе минимизирующем ошибки репарации двойных разрывов ДНК. Тканеспецифичный индуцированный недостаток экспрессии этого гена приводил к заметному уменьшению выживаемости крипт под действием цис-платины, митомицина С и облучения (15 Гр) [80].

Транскрипционный ядерный фактор κB (NFκB) представляет собой один из центральных регуляторов воспалительного ответа клеток и в ряде случаев проявляет антиапоптотическое действие [84], в том числе через взаимодействие с p53 [85]. Утрата активности этого фактора у мышей, дефицитных по гену *p50*, кодирующему субъединицу димерного NFκB, привела к достоверному (в 1,4 раза) уменьшению числа регенерирующих крипт по сравнению с родительской линией (доза облучения 12 Гр) [81].

Кавеолин-1 (Cav-1) является составной частью мембранных микродоменов, включающих холестерин и гликофинголипиды и служит стеллажным белком для многих сигнальных молекул, в том числе eNOS, G-белков и тирозинкиназ. У мышей *Cav-1*^{-/-} отсутствие этого белка вызывало активацию Wnt/β-катенин пути, гиперпролиферацию ККК, а после облучения (15 Гр) раннее оголение крипт и ворсинок [82].

Циклооксигеназы 1 и 2 (Cox-1, Cox-2) катализируют синтез простагландинов – короткоживущих биомедиаторов (аутокоидов), паракринным образом участвующих в регуляции самообновления эпителия желудочно-кишечного тракта, его репарации, инициации и прогрессии неоплазий. Cox-1 конститутивно экспрессируется в кишечном эпителии, а содержание Cox-2 увеличивается в местах воспаления, а также в аденомах и карциномах. У облученных (14 Гр) мышах с генотипом *Cox-1*^{-/-} число регенерирующих крипт было почти в два раза меньше, чем у исходного типа мышей. Дефицит Cox-2 также немного, но недостоверно, увеличивал радиочувствительность ККК [65]. У мышей, дефицитных по гену *Apobec-1*, кодирующему белок, стабилизирующий мРНК Cox-2, обработка LPS перед облучением (12 Гр) не вызывала ожидаемого увеличения выживаемости крипт. По-видимому, это было связано с подавлением синтеза фермента Cox-2 и соответствующего синтеза простагландинов [58]. В регуляции Cox-2 также принимает участие и другой РНК-связывающий белок – CUGBP2 [86]. PGE₂, – наиболее представленный продукт циклооксигеназ, – оказывает биологическое действие через G-белок-связанные рецепторы (EP). В отсутствие экспрессии одного из типов этих рецепторов (EP2), выживаемость крипт в облученных (13 Гр) мышах снижалась почти в два раза [87].

Рецепторы IL-4 экспрессируются в различных тканях, IL-4R1 в гемопоэтических, а IL-4R2 преимущественно в негемопоэтических тканях и связывают также IL-13. У специфического для IL-13 рецептора (IL-13Rα2) отсутствует внутриклеточный сигнальный домен и он играет роль естественного ингибитора этого цитокина. У мышей с фенотипом *IL-4*^{-/-} репарация кишечного

эпителии задерживается после облучения в дозе 3 Гр. Обработка таких мышей и мышей родительского типа химерным белком IL-13R α 2-Ig в 2 раза увеличивала число делящихся клеток и выживших крипт после облучения в дозах 3 и 12 Гр, соответственно [88].

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) является тирозинкиназой, активируемой ионизирующим облучением. Иницируемая ей сигнальная цепь регулирует выживаемость клеток, клеточный цикл и репарацию ДНК. В криптах мышей с мутантным EGFR существенно увеличивалось число апоптотических клеток при облучении 5 Гр. Выживаемость крипт также существенно уменьшалась в области доз 15–19 Гр по сравнению с контрольными мышами [89].

Рецептор IL-7 (IL-7R α) выглядит оригинальным защитным агентом, для которого пока неясен иницирующий лиганд, и, так же как для вышеперечисленных цитокинов и ростовых факторов, плохо понятны дальнейшие пути модификации танатогенных сигналов. Крипты мышей, дефицитных по этому рецептору (IL-7R α ^{-/-}), были значительно более чувствительны к облучению, чем крипты родительской линии мышей [90].

Рецептор семейства опухолевых факторов роста 1 (TNFR1) имеет два лиганда - TNF α и TNF β (растворимый лимфотоксин). Выше была описана сигнальная цепь с участием TNF α , реализующая антитанатогенный эффект LPS на крипты облученных мышей. Вместе с этим, удивителен факт, что выживаемость крипт у мышей без этого рецептора (TNFR1^{-/-}) была почти в три раза выше, чем у родительской линии [59].

Старение характеризуется существенными сдвигами в спектре экспрессии ростовых факторов и иммунотропных цитокинов [91, 92]. Оно оказывает на крипты тонкого кишечника и следовательно на ККК двоякое действие. Размер крипт увеличивается, а их число на поперечное сечение кишечника (*proximal ileum*) уменьшается. Однако большее удивление вызывает феномен увеличения численности клоногенов у старых мышей (29-30 мес) по сравнению с молодыми (6-7 мес). Расчет по данным числа выживших крипт при дозах 10-12 Гр показал, что ККК у старых мышей в 8 раз больше (~160) на крипту, чем у молодых и примерно равно числу пролиферирующих в крипте клеток [93]. В то же время регенерация крипт у старых мышей была более медленной после облучения 14 Гр, чем у молодых [94]. Крипты старых животных также отличаются ускорением скорости пролиферации клеток в стволовой зоне на 30-100% и отсутствием влияния на нее голодания по сравнению с молодыми животными [95].

Представленный выше обзор модификаторов регенерации крипт свидетельствует о значительном эмпирическом материале, накопленном в этой области исследований, который однако оставляет много вопросов о структуре танатогенного аппарата контролируемой деструкции “нежелательных” клоногенных клеток и его регуляции [96, 97].

Микробиота кишечника кажется очевидным и первостепенным претендентом на роль важнейшего участника программ пролиферации, дифференцировки и выживаемости, определяющих судьбу эпителиоцитов, в том числе стволовых. Она является уникальным источником различных компонентов мембранного и цитоплазматического происхождения (эндотоксины, экзотоксины, полисахариды, полинуклеотиды и др.) - активаторов программ гибели/выживаемости клеток млекопитающих. Однако пока исследования этого модификатора, в отличие от вышеприведенных агентов, как будет видно из последующего раздела, пожалуй, оставляют более вопросов, чем ответов.

3. РОЛЬ МИКРОБИОТЫ В СУДЬБЕ КЛОНОГЕННЫХ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ КИШЕЧНИКА.

Кишечник взрослого организма колонизирован >10¹² микроорганизмов, главным образом, бактерий. В дополнение к участию в переваривании пищи желудочно-кишечная микрофлора регулирует запасание калорий, катаболизирует ксенобиотики, модифицирует иммунную систему и постнатальное развитие. Эксперименты с гнотобиотами (ГНБ), конвенциональными животными (кЖ)

и животными с микрофлорой, полученной уже после рождения (пЖ), показали, что микроорганизмы играют существенную роль в развитии кишечника, его гомеостазе и реакциях на повреждающие воздействия [98]. В гнотобионтах развитие микрососудистой сети в ворсинках было подавлено. Колонизация мышей конвенциональной микробиотой или *Bacteroides thetaiotaomicron* инициировало эту программу, в выполнении которой принимали участие и клетки Пенета [99]. Регенеративный ответ на повреждение кишечного эпителия энтеротоксином декстрансульфатом натрия также определялся наличием микробиоты. В её отсутствие заживление существенно замедлялось. Эксперименты с трансгенными мышами показали, что для активации ККК и заживления эпителия необходимы макрофаги и компонент Myd88 сигнального пути, инициируемого TLR (toll-like receptors), т.е. рецепторами к антигенам бактериального происхождения [100]. Аборигенные микроорганизмы также необходимы для созревания фолликул-ассоциированного эпителия Пейеровых бляшек и трансдифференцировки энтероцитов в М-клетки [101].

Существенное влияние оказывает микробиота и на собственные свойства стволовых клеток эпителия кишечника. Эксперименты с меченым тимидином показали, что время перехода эпителиоцитов из крипты на верхушку ворсинки у гнотобионтов составляет 115 ч, а у конвенциональных животных только 53 ч. Колонизация мышей индивидуальными штаммами (*Lactobacillus sp.*, *Torulopsis pintolopesii*) не ускоряла миграцию клеток [102].

Значительно большая устойчивость к генотоксическому воздействию эпителия кишечника была отмечена у гнотобионтов (выживаемость, радиационный энтерит, 16 Гр) по сравнению с кЖ или пЖ, колонизированными *Escherichia coli* и/или *Bacteroides thetaiotaomicron*. Однако, следует отметить, что на клеточном уровне микробиота увеличивала апоптотическую чувствительность только клеток мезенхимы: эндотелиальных и иммунцитов, в то время как апоптотическая реакция клеток, заселяющих крипты, не отличалась между всеми облученными группами [26]. Возможно, микроорганизмы секретируют факторы, подавляющие экспрессию эндогенных энтеропротекторов, например, подобных FGF2. Вместе с тем, идентификация таких факторов пока еще далека от завершения, поскольку испытанные виды микроорганизмов не изменяли чувствительность кишечного эпителия гнотобионтов к повреждающему воздействию [103]. О наличии таких факторов также свидетельствуют и данные об увеличении продолжительности жизни животных, облученных в дозах, повреждающих кишечный эпителий и получавших антибиотики, хотя их влияние на выживаемость крипт не было достоверным [43, 104, 105].

Несмотря на давний поиск препаратов на основе микроорганизмов для модификации выживаемости СК их число пока измеряется единицами [106-109]. Кроме того, все эти препараты оказывали действие только на выживаемость гемопоэтических СК, вероятно опосредованно, через секрецию ростовых факторов и цитокинов клетками иммунной системы [44]. Перспективным представляется недавно предложенный препарат (VSL#3) на основе лиофилизированных живых бактерий, включающий штаммы *Lactobacilli*, *Bifidobacteria* и *Streptococcus*. Он существенно ограничивал диарею у больных, подвергавшихся противоопухолевой радиотерапии, но данные о его действии на клоногенные клетки крипт кишечника пока еще не были представлены [110].

Остаются неисследованными и механизмы защиты ККК в области Пейеровых бляшек [111], хотя именно эти участки эпителия кишечника связаны с транспортом бактериальных антигенов и поддержанием толерантности организма-хозяина к ним [112].

Для разработки пробиотиков, промотирующих выживаемость ККК, представляется полезным принять во внимание ряд новых фактов, проясняющих взаимодействие микробиоты и организма хозяина. На вопрос [113]: - Одна молекула бактериального симбионта – это все, что нужно для здоровья?, - авторы отвечают, вполне возможно [114]. Гипотеза подтверждается открытием цвиттерионного

полисахарида А *Bacteroides fragilis*, оказывавшего исключительное действие на один из видов иммунного ответа, а именно, экспансию CD4⁺ Т-клеток. Колонизация мышей бактериями, не имевшими этого полисахарида, такого действия не оказывала. Подобные данные получены и на других видах: *Bacteroides thetaiotaomicron* и *Lactobacillus plantarum*.

Другое интересное предположение было высказано по поводу связи частоты диареи, вызываемой засорением микробиоты патогенами, и рака кишечника. Вероятно, специфические бактериальные энтеротоксины, в частности, регулирующие функционирование гуанилатциклазы термостабильные энтеротоксины (также например, гуанилин, урогуанилин, агонисты cGMP, специфические ингибиторы кишечной фосфодиэстеразы [115]) способствуют активации опухолесупрессорного фенотипа ККК и клиренсу мутантных клеток эпителия кишечника и, таким образом, снижают вероятность накопления проканцерогенных повреждений ДНК [116, 117].

Как отмечалось в предыдущем разделе, экзогенный липополисахарид (LPS), несмотря на проапоптотические свойства [118], является одним из самых мощных некропротекторов, увеличивающих выживаемость гемопоэтических и кишечных клоногенных клеток у животных, подвергнутых радиационному или химическому воздействию. Однако, видимо вследствие его супериммуногенности, LPS как продукт деструкции бактерий в просвете кишечника, не достигает акцепторов в районе расположения клоногенных клеток. Во-первых, крипты тонкого кишечника являются стерильными, вероятно, в результате антибактериального действия клеток Пенета [119]. Во-вторых, только интраэпителиальные макрофаги пока являются претендентами на акцепцию LPS, поскольку экспрессируют соответствующие рецепторы: CD14 и TLR, хотя и в меньшей степени, чем моноциты периферической крови [59]. В связи с этим для целей модификации выживаемости ККК, в том числе при патологиях желудочно-кишечного тракта, представляются перспективными для поиска, отбора и использования менее токсичных антигенов грамположительных микроорганизмов, которые могут конкурировать с LPS за сигнальные цепи, инициируемые TLR2/TLR4/TLR5 рецепторами клеток, составляющими “нишу” ККК [120-123].

Новые факты касаются взаимодействия микробиоты и Wnt/ β -катенин сигнальной системы, регулятора эпителиальной регенерации и канцерогенеза, в том числе через модулирование активности NF κ B [123], о чём будут сказано ниже.

4. О НЕКОТОРЫХ МЕХАНИЗМАХ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ПРОЛИФЕРАЦИЮ, СОЗРЕВАНИЕ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛОНОГЕННЫХ КЛЕТОК КРИПТ.

Обширный экспериментальный материал дает основания к поиску молекулярных мишеней для фармакологического воздействия на ККК с целью увеличения эффективности клеточной и регенеративной медицины и защиты эпителия в условиях интенсивной химио- и радиотерапии. Основные элементы механизмов, обеспечивающих выживаемость, пролиферацию и созревание клеток, выполняющих функции регенеративных единиц кишечного эпителия, можно представить в виде ряда гипотетических моделей, естественно оставляющих пока много вопросов.

Вышеприведенные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что регенерацию крипты обеспечивают до 30-40 ККК. При этом интересно, что в более радиорезистентных криптах Пейеровых бляшек максимальная оценка числа ККК не превышает величину в 15 клоногенных клеток [22], хотя большинство авторов склоняется к оценке 5-6 стволовых клеток на крипту. Распространенной интерпретацией этого феномена является предположение о репрограммировании ближайших потомков мСК различной степени зрелости или “стволовости” по мере освобождения вакансий в нише для стволовых клеток. Эта принципиальная возможность поддерживается фактами, демонстрирующими свойства пластичности у эпителиальных клеток различной степени зрелости, в том числе, явления метаплазии, образование М-клеток и эктопических крипт [33-35]. Остаётся узнать,

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ

какие сигналы вызывают дедифференцировку, мигрируют ли будущие СК в свободную нишу и т.д.?

Другой возможностью преодоления последствий повреждающего воздействия может быть дормантное состояние СК. Тогда вопрос о попадании в нишу снимается, но вопрос о сигналах и их источниках остается: это могут быть перикрипальные миофибробласты [124], эндотелиоциты [125], энтероэндокринные клетки [126, 127] или продукты специфической деструкции поврежденных СК, например, HMGB1, урат или другие [128, 129]. Остается также неясным механизм активации покоящихся СК. Как известно, для других типов клеток переход к пролиферации сопровождается их интенсивной гибелью (activation induced cell death), вероятно, в целях клиренса “нежелательных” клеток [130].

Для поврежденных ККК остаются несколько возможностей сохранения клонотической активности. Один из них, основной для многих других типов клеток, например, гемопоэтического происхождения, это внутриклеточная репарация повреждений, в том числе ДНК, вызываемых генотоксическими (ионизирующая радиация, цисплатина и др.) и негенотоксическими (5-ФУ, вирусы, старение) воздействиями, критическим звеном которой является преодоление блока репликации. Как свидетельствуют вышеприведенные данные, опухолевый супрессор p53, видимо, не единственный и не главный регулятор пролиферации поврежденных клеток крипты. Другой путь выживания и репрограммирования, более гипотетический, может проходить через образование гигантских клеток, либо в результате эндоредупликации или слияния (феномен характерный для СК) и последующим квазимейотическим делением с образованием ККК [131-134].

Кажется логичным предположение о том, что танатогенный аппарат ККК должен регулироваться механизмами, определяющими умножение СК, созревание и направление их дифференцировки. Во всяком случае некоторые элементы этих механизмов представляются общими для известных суицидных программ. К настоящему времени различают несколько сигнальных путей, влияющих на переселение, пролиферацию, созревание и дифференцировку СК, которые далее, по большей части, смыкаются в сеть “перекликающихся” биохимических звеньев [135-138] (рис. 3).

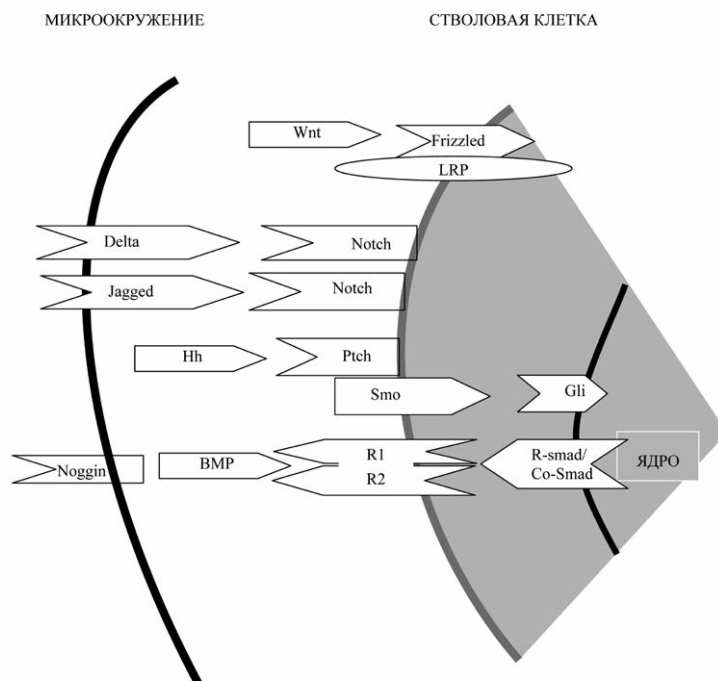


Рисунок 3.

Некоторые биохимические элементы молекулярного взаимодействия микроокружения ("ниши") и стволовых клеток эпителия кишечника.

1. Hedgehog (Hh) сигнальный путь принимает участие в процессах эпителиальной дифференцировки. Лиганды семейства Hh (sonic, indian) связываются с рецептором Ptch (Patched) и через корецептор Smo (Smoothened) промотируют переход в ядро транскрипционного активатора Gli. Ihh паракринным образом промотирует экспрессию Ptch 1 в эпителиальных миофибробластах и гладко-мышечных клетках. Кроме того, Ihh регулирует экспрессию Wnt в крипте эпителия кишечника.

2. Jagged-Notch взаимодействие между микроокружением и СК является важным для поддержания недифференцированного состояния СК [127]. Удаление обычного для этого пути транскрипционного фактора CSL/RBP-J вызывало быструю дифференцировку цилиндрических предшественников в бокаловидные клетки.

3. BMP (bone morphogenetic protein) является членом семейства TGF (трансформирующий фактор роста). BMP-антагонисты (Noggin) обычно регулируют внеклеточный уровень этого лиганда. Связываясь с рецепторами 2 и затем 1, BMP индуцирует транслокацию в ядро транскрипционного регулятора R-Smad/Co-Smad. Ингибирующий эффект BMP на активность β -катенина опосредуется через опухолевый супрессор PTEN (phosphatase and tensin homologue, фосфатаза липидов и белков), фосфатидилинозитол-3 киназу (PI-3K) и ингибирование Akt (серин-треониновая киназа). Последняя в норме промотирует пролиферацию, ингибирует апоптоз и усиливает активность β -катенина при участии киназы гликогенсинтазы (Gsk-3 β) [4, 35, 139].

4. Noggin, являясь антагонистом BMP, играет роль молекулярного переключателя, инициирующего активацию СК путем временной отмены действия BMP.

5. Е-кадгерин и β -катенин образуют связывающий комплекс между микроокружением и СК, который обеспечивает закоривание СК в “нише” [140, 141].

Аномальная активация Wnt/ β -катенин цепи обычно связана с избыточной пролиферацией СК и неоплазией кишечника и этот путь управления пролиферацией и гомеостазом СК наиболее изучен [24] (рис. 4).

Секретируемые гликопротеины семейства Wnt (Wnt3/6/9) связываются с рецепторами Frizzled (Fz5/6/7) и LRP (low density lipoprotein-related receptor protein 5/6), если не связываются с ингибитором Wnt – DKK1 (dickkopf homologue 1). Инициация сигнального каскада выражается в активации цитоплазматического фосфопротеина Dsh (Dishevelled) и далее в ингибировании фосфорилирования β -катенина Gsk-3 β . Gsk-3 β находится в составе комплекса полипептидов: Axin/Apc (Adenomatous polyposis coli), которые специфически промотируют реакцию. В отсутствие Wnt или с мутированным Apc Gsk-3 β фосфорилирует β -катенин и тем стимулирует его деградацию в протеасоме. Увеличение цитоплазматического содержания нефосфорилированного β -катенина (и несвязанного с Е-кадерином) позволяет ему взаимодействовать с рядом белков (Tcf-4, PARP-1, Ku70 – последние два играют существенную роль в репарации ДНК) в ядре, промотируя транскрипцию Wnt-регулируемых генов (www.stanford.edu/~musse/wntwindow.html). Среди них важным в плане регуляции выживаемости ККК представляется *c-Мус*, продукт которого блокирует синтез p21, ингибитора клеточного цикла [137, 144] и контролирует экспрессию многих других генов танатогенных программ [145]. Интересно, что модификатор выживаемости ККК индометацин специфически влияет на экспрессию *c-Мус* и других Wnt-регулируемых генов [146].

В последнее время большой интерес привлекает уникальный по многочисленности своих функций фермент - серин-тирозиновая киназа Gsk-3 β , - необходимое звено Wnt/ β -катенин сигнальной системы [147]. Обращает на себя внимание, что действие Gsk-3 на большинство субстратов вызывает их ингибирование. Среди механизмов гибели/выживаемости, опосредуемых киназой, следует отметить модулирование проапоптотических и митохондриальных и ядерных путей p53 [148, 149]. Она также участвует в регуляции экспрессии Cox-2, фермента существенного для выживаемости неопластических клеток и ККК [150, 151]. Её участие является критическим для функционирования провоспалительного и антиапоптотического регулятора NF κ B [152]. Вероятно, эта киназа принимает участие также в вышеописанном механизме танатогенного действия церамида через посредство FGF2 и эндотелиальных клеток [153].

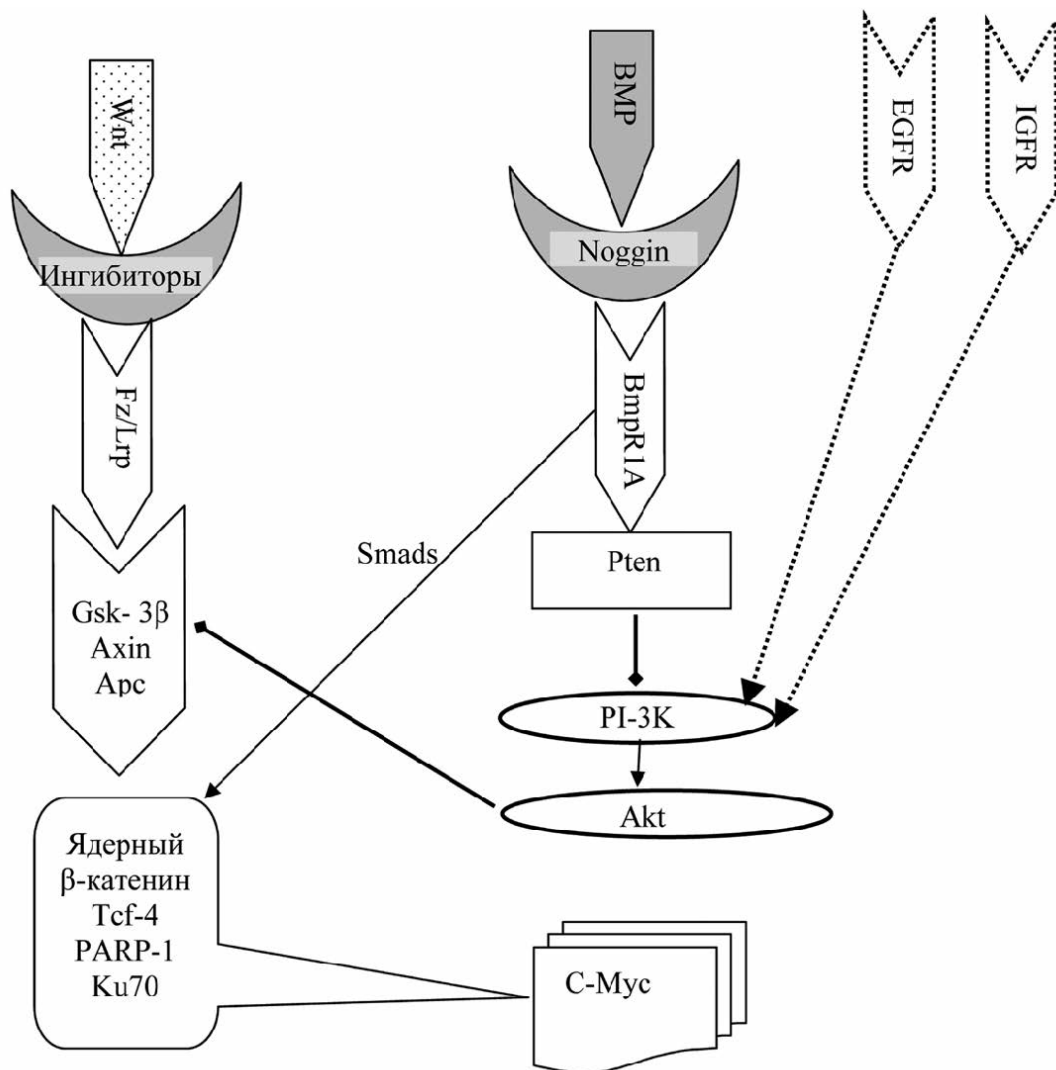


Рисунок 4.

Схема некоторых звеньев молекулярного аппарата системы Wnt/β-катенин, принимающих участие в программах выживаемости и пролиферации СК эпителия кишечника [142; 143].

Серый фон обозначает источником сигналов перикрипальные миофибробласты; точечный фон - пролиферирующие предшественники в крипте (T1 - T4, см. рис. 1); штриховые стрелки обозначают предполагаемое взаимодействие; IGFR - представитель факторов выживаемости (рецептор инсулин-подобного фактора роста); EGFR - рецептор эпидермального фактора роста; Smads - внутриклеточные сигнальные молекулы, передающие действие TGF-β, могут индуцировать экспрессию p21. Линии без стрелочек обозначают ингибирование.

Таким образом, представляется, что область исследований механизмов регуляции выживаемости и гибели стволовых клеток эпителия кишечника является в настоящее время весьма актуальной, и несмотря на большие лакуны в экспериментальных данных о танатогенных механизмах, управляющих селекцией и созреванием СК, имеются все основания для оптимизма в поиске низкомолекулярных и микробиологических препаратов для фармакологического управления клеточным обменом, регенерацией и подавлением канцерогенеза в этой ткани.

В самое последнее время опубликован ряд экспериментальных работ, открывающих новые перспективы в изучении стволовых клеток кишечного эпителия и в понимании механизмов, регулирующих их выживаемость и неопластическую трансформацию. С помощью генно-инженерной методики с использованием индуцируемой Cre-рекомбиназы удалось биохимически и морфологически идентифицировать потенциальные стволовые клетки в двух областях крипты: на дне среди клеток Пенета (маркеры: orphan leucine-rich-repeat-containing G-protein-coupled receptor 5, Lrg5/ Gpr49 [154]; трансмембранный гликопротеин Prominin 1/CD133 [155]) и в позиции на 4 клеточных диаметра выше (маркер: Bmi1, компонент комплекса, подавляющего активность хроматина (polycomb-repressing complex 1, PRC1) [156]).

Кроме того, получены важные, хотя и дискуссионные, данные о влиянии некоторых генов (*p21* [157], *Bax*, *Bak* [158], *Puma* [159]) и межклеточных взаимодействий (эндотелиоциты [158, 160]) на судьбу ККК при цитотоксическом воздействии [161-163].

Уникальные данные, проявляющие роль микробиоты в регенерации крипт, получены при исследовании радиозащитного действия CBLB502 - синтетического аналога флагеллина – белка, присутствующего у некоторых видов микрофлоры кишечника и единственного лиганда рецептора TLR5 [164]. Интересно, что TLR5 экспрессируется на базолатеральной мембране эпителиоцитов и таким образом не может прямо контактировать с бактериальными лигандами. Подобные результаты, подтверждающие важность опосредованного взаимодействия крипты с мезенхимой, были получены при исследовании влияния декстрансульфата натрия на эпителий кишечника. Один из мощных эндогенных стимуляторов выживаемости СК - PGE2, выделялся из лейкоцитов, которые перемещались к стволовой зоне поврежденных крипт. Этот эффект зависел от MyD88 – главного регулятора TLR-сигнальных путей, обеспечивающих реакцию клеток на патоген-ассоциированные инвариантные последовательности [165].

Авторы приносят благодарность Н.С. Вишенковой за помощь в подготовке рисунков, а также сайту molbiol.ru за информационную поддержку.

Работа выполнена при финансовой поддержке госбюджета, Российского фонда фундаментальных исследований (проекты: № 05-04-48794; 06-04-08193; 07-04-00671), Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Калужской области (проект № 07-04-97607).

ЛИТЕРАТУРА

1. Lynch L., O'Donoghue, D., Dean J., O'Sullivan J., O'Farrelly C., Golden-Mason L. (2006) *J. Immunol.*, **176**, 5199-5204.
2. Nakao A., Toyokawa H., Kimizuka, K., Nalesnik, M.A., Nozaki I., Bailey R.J., Demetris A.J., Starzl T.E., Murase N. (2006) *Blood*, **108**, 1413-1420.
3. Li L., Xie T. (2005) *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, **21**, 605-631.
4. Fuchs E., Tumber T., Guasch G. (2004) *Cell*, **116**, 769-778.
5. Arai F., Hirao A., Ohmura M., Sato H., Matsuoka S., Takubo K., Ito K., Koh G.Y., Suda T. (2004) *Cell*, **118**, 149-161.
6. Zhang J., Niu C., Ye L., Huang H., He X., Tong W.G., Ross J., Haug J., Johnson T., Feng J.Q., Harris S., Wiedemann L.M., Mishina Y., Li L. (2003) *Nature*, **425**, 836-841.
7. Blanpain C., Lowry W.E., Geoghegan A., Polak L., Fuchs E. (2004) *Cell*, **118**, 635-648.
8. Doetsch F. (2003) *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **13**, 543-550.
9. Simon-Assmann P., Turck N., Sidhoum-Jenny M., Gradwohl G., Kedinger M. (2007) *Cell. Biol. Toxicol.*, **23**, 241-256.
10. Withers H.R., Elkind M.M. (1968) *Radiology*, **91**, 998-1000.

11. *Withers H., Elkind M.M.* (1970) *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.*, **17**, 261-267.
12. *Potten C.S.* (2004) *Radiat Res.*, **161**, 123-136.
13. *Schmidt G.H., Winton D.J., Ponder B.A.* (1988) *Development*, **103**, 785-790.
14. *Gordon J.I., Schmidt G.H., Roth K.A.* (1992) *FASEB J.*, **6**, 3039-3050.
15. *Campbell F., Williams G.T., Appleton M.A., Dixon M.F., Harris M., Williams E.D.* (1996) *Gut*, **39**, 569-573.
16. *Bjerknes M., Cheng H.* (2006) *Methods Enzymol.*, **419**, 337-83.
17. *Wong W.M., Wright N.A.* (1999) *J. Clin. Pathol.*, **52**, 321-333.
18. *Ro S., Rannala B.* (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **98**, 10519-10521.
19. *Gerike T.G., Paulus U., Potten C.S., Loeffler M.* (1998) *Cell Prolif.*, **31**, 93-110.
20. *Zipori D.* (2005) *Stem Cells*, **23**, 719-726.
21. *Meinzer P., Sandblad B.* (1986) *Cell Tissue Kinet.*, **19**, 581-590.
22. *Maunda K.K., Moore J.V.* (1987) *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.*, **51**, 255-264.
23. *Morris J.A.* (1994) *Anticancer Res.*, **14**, 2073-2076.
24. *Barker N., Ridgway R.A., van Es J.H., van de Wetering M., Begthel H., van den Born M., Danenberg E., Clarke A.R., Sansom O.J., Clevers H.* (2009) *Nature*, **457**, 608-611.
25. *Augustine A.D., Gondre-Lewis T., McBride W., Miller L., Pellmar T.C., Rockwell S.* (2005) *Radiat. Res.*, **164**, 100-109.
26. *Crawford P.A., Gordon J.I.* (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 13254-13259.
27. *Pellmar T.C., Rockwell S.* (2005) *Radiat. Res.*, **163**, 115-123.
28. *Cheng H., Leblond C.P.* (1974) *Am. J. Anat.*, **141**, 537-561.
29. *Crosnier C., Stamataki D., Lewis J.* (2006) *Nat. Rev. Genet.*, **7**, 349-359.
30. *Totafurno J., Bjerknes M., Cheng H.* (1987) *Biophys. J.*, **52**, 279-294.
31. *Christian A.M.* (2004) *Cell*, **118**, 530-532.
32. *Bjerknes M., Cheng H.* (2005) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **289**, G381-G387.
33. *Chin K., Onishi S., Yuji M., Inamoto T., Qi W.M., Warita K., Yokoyama T., Hoshi N., Kitagawa H.* (2006) *J. Vet. Med. Sci.*, **68**, 1023-1028.
34. *Miller H., Zhang J., Kuolee R., Patel G.B., Chen W.* (2007) *World J. Gastroenterol.*, **13**, 1477-1486.
35. *Leedham S.J., Brittan M., McDonald S.A., Wright N.A.* (2005) *J. Cell. Mol. Med.*, **9**, 11-24.
36. *Проскуряков С.Я., Коноплянников А.Г., Коноплянникова О.А., Ульянова Л.П.* (2008) *Радиац. биол. радиоэкол.*, **48**, 721-729.
37. *Walsh D.* (1897) *Brit. Med. J.*, **2**, 272-275.
38. *Singh V.K., Yadav V.S.* (2005) *Exp. Mol. Pathol.*, **78**, 156-169.
39. *Wu S.G., Miyamoto T.* (1990) *Radiat. Res.*, **123**, 112-115.
40. *Hancock S.L., Chung R.T., Cox R.S., Kallman R.F.* (1991) *Cancer Res.*, **51**, 2280-2285.
41. *Zaghloul M.S., Dorie M.J., Kallman R.F.* (1993) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **26**, 417-425.
42. *Potten C.S.* (1996) *Stem Cells*, **14**, 452-459.
43. *Van der Meeren A., Mouthon M.A., Gaugler M.H., Vandamme M., Gourmelon P.* (2002) *Radiat. Res.*, **157**, 642-649.
44. *Neta R., Stiefel S.M., Finkelman F., Herrmann S., Ali N.* (1994) *J. Immunol.*, **153**, 4230-4237.
45. *Leigh B.R., Khan W., Hancock S.L., Knox S.J.* (1995) *Radiat. Res.*, **142**, 12-15.
46. *Okunieff P., Wu T., Huang K., Ding I.* (1996) *Br. J. Cancer, Suppl.*, **27**, S105-S108.
47. *Okunieff P., Mester M., Wang J., Maddox T., Gong X., Tang D., Coffee M., Ding I.* (1998) *Radiat. Res.*, **150**, 204-211.
48. *Houchen C.W., George R.J., Sturmoski M.A., Cohn S.M.* (1999) *Am. J. Physiol.*, **276**, G249-G258.

49. Maj J.G., Paris F., Haimovitz-Friedman A., Venkatraman E., Kolesnick R., Fuks Z. (2003) *Cancer Res.*, **63**, 4338-4341.
50. Booth D., Haley J.D., Bruskin A.M., Potten C.S. (2000) *Int. J. Cancer*, **86**, 53-59.
51. Farrell C.L., Bready J.V., Rex K.L., Chen J.N., DiPalma C.R., Whitcomb K.L., Yin S., Hill D.C., Wiemann B., Starnes C.O., Havill A.M., Lu Z.N., Aukerman S.L., Pierce G.F., Thomason A., Potten C.S., Ulich T.R., Lacey D.L. (1998) *Cancer Res.*, **58**, 933-939.
52. Potten C.S., O'Shea J.A., Farrell C.L., Rex K., Booth C. (2001) *Cell Growth Differ.*, **12**, 265-275.
53. Riehl T., Cohn S., Tessner T., Schloemann S., Stenson W.F. (2000) *Gastroenterology*, **118**, 1106-1116.
54. Okunieff P., Cornelison T., Mester M., Liu W., Ding I., Chen Y., Zhang H., Williams J.P., Finkelstein J. (2005) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **62**, 273-278.
55. Esworthy R.S., Mann J.R., Sam M., Chu F.F. (2000) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **279**, G426-G436.
56. Khan W.B., Shui C., Ning S., Knox S.J. (1997) *Radiat. Res.*, **148**, 248-253.
57. Ainsworth E.J. (1988) *Pharmacol. Ther.*, **39**, 223-241.
58. Anant S., Murmu N., Houchen C.W., Mukhopadhyay D., Riehl T.E., Young S.G., Morrison A.R., Stenson W.F., Davidson N.O. (2004) *Gastroenterol.*, **127**, 1139-1149.
59. Riehl T.E., Newberry R.D., Lorenz R.G., Stenson W.F. (2004) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **286**, G166-G173.
60. Hassan F., Islam S., Mu M.M., Ito H., Koide N., Mori I., Yoshida T., Yokochi T. (2005) *Mol. Cancer Res.*, **3**, 373-379.
61. Ruifrok A.C., Mason K.A., Thames H.D. (1996) *Radiat. Res.*, **145**, 740-745.
62. Lehnert S. (1979) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **5**, 825-833.
63. Hanson W.R., DeLaurentiis K. (1987) *Prostaglandins*, **33** Suppl, 93-104.
64. Проскуряков С.Я., Коноплянников А.Г., Коноплянникова О.А., Ульянова Л.П., Цыб А.Ф. (2008) *Клет. технол. биол. мед.*, № 4, 226-229.
65. Houchen C.W., Stenson W.F., Cohn S.M. (2000) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **279**, G858-G865.
66. Cohn S.M., Schloemann S., Tessner T., Seibert K., Stenson W.F. (1997) *J. Clin. Invest.*, **99**, 1367-1379.
67. Watson A.J., Pritchard D.M. (2000) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **278**, G1-G5.
68. Sansom O.J., Clarke A.R. (2002) *Oncogene*, **21**, 5934-5939.
69. Проскуряков С.Я., Габай В.Л., Коноплянников А.Г. (2002) *Биохимия*, **67**, 467-491.
70. Merritt A.J., Potten C.S., Kemp C.J., Hickman J.A., Balmain A., Lane D.P., Hall P.A. (1994) *Cancer Res.*, **54**, 614-617.
71. Hendry J.H., Cai W.B., Roberts S.A., Potten C.S. (1997) *Radiat. Res.*, **148**, 254-259.
72. Bach S.P., Renahan A.G., Potten C.S. (2000) *Carcinogenesis*, **21**, 469-476.
73. Hoyes K.P., Cai W.B., Potten C.S., Hendry J.H. (2000) *Int. J. Radiat. Biol.*, **76**, 1435-1442.
74. Komarova E.A., Kondratov R.V., Wang K., Christov K., Golovkina T.V., Goldblum J.R., Gudkov A.V. (2004) *Oncogene*, **23**, 3265-3271.
75. Nussenzweig A., Sokol K., Burgman P., Li L., Li G.C. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **94**, 13588-13593.
76. Pritchard D.M., Potten C.S., Hickman J.A. (1998) *Cancer Res.*, **58**, 5453-5465.
77. Masutani M., Nozaki T., Nakamoto K., Nakagama H., Suzuki H., Kusuoka O., Tsutsumi M., Sugimura T. (2000) *Mutat. Res.*, **462**, 159-166.
78. Ishizuka S., Martin K., Booth C., Potten C.S., de Murcia G., Burkle A., Kirkwood T.B. (2003) *Nucleic Acids Res.*, **31**, 6198-6205.
79. Ch'ang H.J., Maj J.G., Paris F., Xing H.R., Zhang J., Truman J.P., Cardon-Cardo C., Haimovitz-Friedman A., Kolesnick R., Fuks Z. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 484-490.
80. Hay T., Patrick T., Winton D., Sansom O.J., Clarke A.R. (2005) *Oncogene*, **24**, 3842-3846.

81. Wang Y., Meng A., Lang H., Brown S.A., Konopa J.L., Kindy M.S., Schmiedt R.A., Thompson J.S., Zhou D. (2004) *Cancer Res.*, **64**, 6240-6246.
82. Li J., Hassan G.S., Williams T.M., Minetti C., Pestell R.G., Tanowitz H.B., Frank P.G., Sotgia F., Lisanti M.P. (2005) *Cell Cycle*, **4**, 1817-1825.
83. Idogawa M., Masutani M., Shitashige M., Honda K., Tokino T., Shinomura Y., Imai K., Hirohashi S., Yamada T. (2007) *Cancer Res.*, **67**, 911-918.
84. Egan L.J., Eckmann L., Greten F.R., Chae S., Li Z.W., Myhre G.M., Robine S., Karin M., Kagnoff, M.F. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 2452-2457.
85. Gurova K.V., Hill J.E., Guo C., Prokvolit A., Burdelya L.G., Samoylova E., Khodyakova A.V., Ganapathi R., Ganapathi M., Tararova N.D., Bosykh D., Lvovskiy D., Webb T.R., Stark G.R., Gudkov A.V. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 17448-17453.
86. Murmu N., Jung J., Mukhopadhyay D., Houchen C.W., Riehl T.E., Stenson W.F., Morrison R., Arumugam T., Dieckgraefe B.K., Anant S. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 13873-13878.
87. Houchen C.W., Sturmoski M.A., Anant S., Breyer R.M., Stenson W.F. (2003) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **284**, G490-G498.
88. Kawashima R., Kawamura Y.I., Kato R., Mizutani N., Toyama-Sorimachi N., Dohi T. (2006) *Gastroenterol.*, **131**, 130-141.
89. Iyer R., Thames H.D., Tealer J.R., Mason K.A., Evans S.C. (2004) *Radiother. Oncol.*, **72**, 283-289.
90. Welniak L.A., Khaled A.R., Anver M.R., Komschlies K.L., Wiltrout R.H., Durum S., Ruscetti F.R., Blazar B.R., Murphy W.J. (2001) *J. Immunol.*, **166**, 2924-2928.
91. Бабаева А.Г. (1985) Регенерация и система иммуногенеза, Медицина, М.
92. Boren E., Gershwin M.E. (2004) *Autoimmun. Rev.*, **3**, 401-406.
93. Martin K., Potten C.S., Roberts S.A., Kirkwood T.B. (1998) *J. Cell. Sci.*, **111** (Pt. 16), 2297-2303.
94. Potten C.S., Martin K., Kirkwood T.B. (2001) *Novartis Found. Symp.*, **235**, 66-79; discussion: 79-84, 101-104.
95. Holt P.R., Yeh K.Y. (1989) *J. Gerontol.*, **44**, B9-B14.
96. Thompson, C.B. (1995) *Science*, **267**, 1456-1462.
97. Проскуряков С.Я., Габай Л.В., Коноплянников А.Г. (2006) *Тер. Аpx.*, №1, 65-70.
98. Falk P.G., Hooper L.V., Midtvedt T., Gordon J.I. (1998) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **62**, 1157-1170.
99. Stappenbeck T.S., Hooper L.V., Gordon J.I. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 15451-15455.
100. Pull S.L., Doherty J.M., Mills J.C., Gordon J.I., Stappenbeck T.S. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 99-104.
101. Yamanaka T., Helgeland L., Farstad I.N., Fukushima H., Midtvedt T., Brandtzaeg P. (2003) *J. Immunol.*, **170**, 816-822.
102. Savage D.C., Siegel J.E., Snellen J.E., Whitt D.D. (1981) *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 996-1001.
103. Weichselbaum R.R. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 13363-13364.
104. Hendry J.H., Potten C.S., Roberts N.P. (1983) *Radiat. Res.*, **96**, 100-112.
105. Geraci J.P., Jackson K.L., Mariano M.S. (1985) *Radiat. Res.*, **101**, 442-450.
106. Будагов Р.С., Ульянова Л.П., Поспелова В.В. (2006) *Вестник РАМН*, №2, 3-5.
107. Tsuneoka K., Ishihara H., Dimchev A.B., Nomoto K., Yokokura T., Shikita M. (1994) *J. Radiat. Res. (Tokyo)*, **35**, 147-156.
108. Федорова Р., Маскова Н.О. (2000) *Int. J. Immunopharmacol.* **22**, 989-999.
109. Гуценко К.К., Иванов А.А., Каверина К.Г., Кузьмина Т.Д., Мальцев В.Н., Ставракова Н.М., Уланова А.М., Шальнова Г.А., Швачно А.Г. (1994) *Радиационная биология и радиационная экология*, **34**, 582-586.
110. Delia P., Sansotta G., Donato V., Messina G., Frosina P., Pergolizzi S., De Renzis C., Fatularo G. (2002) *Am. J. Gastroenterol.*, **97**, 2150-2152.
111. Конопляникова О.А., Коноплянников А.Г., Вацек А. (1994) *Радиационная Биология и Радиационная Экология*, **34**, 514-519.

112. Yasui H., Ohwaki M. (1991) J. Dairy Sci., **74**, 1187-1195.
113. Fiocchi C. (2005) N. Engl. J. Med., **353**, 2078-2080.
114. Mazmanian S.K., Kasper D.L. (2006) Nat. Rev. Immunol., **6**, 849-858.
115. Zacharowski K., Berkels R., Olbrich A., Chatterjee P.K., Cuzzocrea S., Foster S.J., Thiernemann C. (2001) Crit. Care Med., **29**, 1599-1608.
116. Pitari G.M., Zingman L.V., Hodgson D.M., Alekseev A.E., Kazerounian S., Bienengraeber M., Hajnoczky G., Terzic A., Waldman S.A. (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **100**, 2695-2699.
117. Carrithers S.L. (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **100**, 3018-3020.
118. Haimovitz-Friedman A., Cordon-Cardo C., Bayoumy S., Garzotto M., McLoughlin M., Gallily R., Edwards C.K. 3rd, Schuchman E.H., Fuks Z., Kolesnick R. (1997) J. Exp. Med., **186**, 1831-1841.
119. Garabedian E.M., Roberts L.J., McNevin M.S., Gordon J.I. (1997) J. Biol. Chem., **272**, 23729-23740.
120. Buckley J.M., Wang J.H., Redmond H.P. (2006) J. Leukoc. Biol., **80**, 731-741.
121. Vinderola G., Matar C., Perdigon G. (2005) Clin. Diagn. Lab. Immunol., **12**, 1075-1084.
122. Sullivan A., Nord C.E. (2005) J. Intern. Med., **257**, 78-92.
123. Sun J., Hobert M.E., Duan Y., Rao A.S., He T.C., Chang E.B., Madara J.L. (2005) Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol., **289**, G129-G137.
124. Mills J.C., Gordon J.I. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 12334-12336.
125. Paris F., Fuks Z., Kang A., Capodiceci P., Juan G., Ehleiter D., Haimovitz-Friedman A., Cordon-Cardo C., Kolesnick R. (2001) Science, **293**, 293-297.
126. Bjerknes M., Cheng H. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 12497-12502.
127. Radford I.R., Lobachevsky P.N. (2006) Cell Prolif., **39**, 403-414.
128. Thum T., Bauersachs J., Poole-Wilson P.A., Volk H.D., Anker S.D. (2005) J. Am. Coll. Cardiol., **46**, 1799-1802.
129. Проскуряков С.Я., Габай В.Л., Коноплянников А.Г., Замулаева И.А., Колесникова А.И. (2005) Биохимия, **70**, 1593-1605.
130. Green D.R., Mahboubi A., Nishioka W., Oja S., Echeverri F., Shi Y., Glynn J., Yang Y., Ashwell J., Bissonnette R. (1994) Immunol. Rev., **142**, 321-342.
131. Alvarez-Dolado M., Pardal R., Garcia-Verdugo J.M., Fike J.R., Lee H.O., Pfeffer K., Lois C., Morrison S.J., Alvarez-Buylla A. (2003) Nature., **425**, 968-973.
132. Chu K., Lindqvist J., Dewey W.C. (2003) Radiat. Res., **159**, 705-712.
133. Walen K.H. (2006) In Vitro Cell Dev. Biol. Anim., **42**, 216-224.
134. Weimann J.M., Johansson C.B., Trejo A., Blau H.M. (2003) Nat. Cell. Biol., **5**, 959-966.
135. Scoville D.H., Sato T., He X.C., Li L. (2008) Gastroenterology, **134**, 849-864.
136. He X.C., Zhang J., Li L. (2005) Ann. N.Y. Acad. Sci., **1049**, 28-38.
137. Ahuja V., Dieckgraefe B.K., Anant S. (2006) Curr. Opin. Gastroenterol., **22**, 90-94.
138. Rizvi A.Z., Wong M.H. (2005) Stem Cells, **23**, 150-165.
139. Haegebarth A., Clevers H. (2009) Am. J. Pathol., **174**, 715-721.
140. Hermiston M.L., Wong M.H., Gordon J.I. (1996) Genes Dev., **10**, 985-996.
141. Larsson L.I. (2006) Histochem. Cell. Biol., **126**, 575-582.
142. Moore K.A., Lemischka I.R. (2006) Science, **311**, 1880-1885. ,
143. Zhang H., Burrows F. (2004) J. Mol. Med., **82**, 4884-99.
144. van de Wetering M., Sancho E., Verweij C., de Lau W., Oving I., Hurlstone A., van der Horn K., Batlle E., Coudreuse D., Haramis A.P., Tjon-Pon-Fong M., Moerer P., van den Born M., Soete G., Pals S., Eilers M., Medema R., Clevers H. (2002) Cell, **111**, 241-250.
145. Mariadason J.M., Nicholas C., L'Italien K.E., Zhuang M., Smartt H.J., Heerdt B.G., Yang W., Corner G.A., Wilson A.J., Klampfer L., Arango D., Augenlicht L.H. (2005) Gastroenterology, **128**, 1081-1088.
146. Hawcroft G., D'Amico M., Albanese C., Markham A.F., Pestell R.G., Hull M.A. (2002) Carcinogenesis, **23**, 107-114.

147. Lin C.L., Wang J.Y., Huang Y.T., Kuo Y.H., Surendran K., Wang F.S. (2006) J. Am. Soc. Nephrol., **17**, 2812-2820.
148. Ghosh J.C., Altieri D.C. (2005) Clin. Cancer Res., **11**, 4580-4588.
149. Tan J., Zhuang L., Leong H.S., Iyer N.G., Liu E.T., Yu Q. (2005) Cancer Res., **65**, 9012-9020.
150. Stenson W.F. (2007) Curr. Opin. Gastroenterol., **23**, 107-110.
151. Thiel A., Heinonen M., Rintahaka J., Hallikainen T., Hemmes A., Dixon D.A., Haglund C., Ristimäki A. (2006) J. Biol. Chem., **281**, 4564-4569.
152. Takada Y., Fang X., Jamaluddin M.S., Boyd D.D., Aggarwal B.B. (2004) J. Biol. Chem., **279**, 39541-395.
153. Lin C.F., Chen C.L., Lin Y.S. (2006) Curr. Med. Chem., **13**, 1609-1616.
154. Barker N., van Es J.H., Kuipers J., Kujala P., van den Born M., Cozijnsen M., Haegebarth A., Korving J., Begthel H., Peters P.J., Clevers H. (2007) Nature, **449**, 1003-1007.
155. Zhu L., Gibson P., Currle D.S., Tong Y., Richardson R.J., Bayazitov I.T., Poppleton H., Zakharenko S., Ellison D.W., Gilbertson R.J. (2009) Nature, **457**, 603-607.
156. Sangiorgi E., Capecchi M.R. (2008) Nat. Genet., **40**, 915-920.
157. George R.J., Sturmoski M.A., May R., Sureban S.M., Dieckgraefe B.K., Anant S., Houchen C.W. (2009) Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol., **296**, G245- G254.
158. Rotolo J.A., Maj J.G., Feldman R., Ren D., Haimovitz-Friedman A., Cordon-Cardo C., Cheng E.H., Kolesnick R., Fuks Z. (2008) Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., **70**, 804-815.
159. Qiu W., Carson-Walter E.B., Liu H., Epperly M., Greenberger J.S., Zambetti G.P., Zhang L., Yu J. (2008) Cell Stem Cell, **2**, 576-583.
160. Schuller B.W., Rogers A.B., Cormier K.S., Riley K.J., Binns P.J., Julius R., Hawthorne M.F., Coderre J.A. (2007) Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., **68**, 205-210.
161. Brown M. (2008). Comment on: Schuller et al. (2007) Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. **68**, 205-210). Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., **70**, 799-800.
162. Gudkov A.V., Gleiberman A. (2008) (In regard to Schuller et al. (2007) Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., **68**, 205-210). Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., **70**, 800-801; author reply 802-803.
163. Hendry J.H., Dörr W., Hill R.P., Potten C.S. (2008) (Regarding Schuller et al. (2007) Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. **68**, 205-210). Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. **70**, 801-802; author reply 803.
164. Burdelya L.G., Krivokrysenko V.I., Tallant T.C., Strom E., Gleiberman A.S., Gupta D., Kurnasov O.V., Fort F.L., Osterman A.L., Didonato J.A., Feinstein E., Gudkov A.V. (2008) Science, **320**, 226-230.
165. Brown S.L., Riehl T.E., Walker M.R., Geske M.J., Doherty J.M., Stenson W.F., Stappenbeck T.S. (2007) J. Clin. Invest. **117**, 258-269.

Поступила: 17. 01. 2008.

**STEM CELLS OF INTESTINE EPITHELIUM. SURVIVAL MECHANISMS
AND MICROBIOTA ROLE**

***S.Ya. Proskuryakov¹, A.G. Konoplyannikov¹, L.P. Ulyanova¹, D.Yu. Logunov², B.S. Narodicky²,
A.L. Gincburg²***

¹Medical Radiological Research Center Russian Academy of Medical Sciences, Korolev, str. 4, Obninsk, 249036 Russia; fax: +7(495)956-1440, e-mail: noo@mrrc.obninsk.ru

²Gamaleya Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Academy of Medical Sciences, Gamaleya str., 18, Moscow, 123098 Russia; fax: (499)193-6135, e-mail: L.DenisY@yandex.ru

The thanatogenetic mechanisms of stem cells (SC) of rapidly renewing system of intestinal epithelium still remain unclear. On the one hand, they are definitely involved into basic mechanisms of carcinogenesis in the gastrointestinal tract, because dysregulation of programs responsible for elimination of "unwanted" mutant cells (which are normally under immune and own intrinsic control) is one of the reasons of neoplastic expansion.

On the other hand, elucidation and characterization of the regulatory machinery controlling SC survival are interrelated with problems of clinical medicine, including the increase of therapeutic efficiency of treatment of inflammatory and ulcer lesions of the gut, traumatic and surgical wounds, as well as restriction of side effects in normal tissues induced by application of intensive methods chemo- and radiotherapy of cancer. The latter is especially important for treatment of blood diseases and tumors of peritoneal cavity organs mainly due to bone marrow and intestinal epithelium damage. (These tissues are the most sensitive to these treatments.)

The review considers data on exogenous and genetic modifiers of SC survival, and also the basic principles of mechanisms involved into renewal and regeneration of SC and the effects of microbiota on these processes.

Key words: intestine epithelium, stem cells, crypt clonogenic cells, modifiers of destruction/survival rate, Wnt - β -catenin signaling pathway.