

КЛЕТОЧНАЯ РАДИОБИОЛОГИЯ

УДК 577.2:611.018.21:539.1.047

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ

© 2018 г. М. В. Пустовалова^{1,2}, А. К. Грехова^{1,2,3}, А. Н. Осипов^{1,2,*}

¹ Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Россия

² Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

³ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

*E-mail: andreyan.osipov@gmail.com

Поступила в редакцию 14.02.2018 г.

Механизмы формирования эффектов облучения в малых дозах (10–100 мГр) являются одной из наиболее дискутируемых и спорных тем как в современной молекулярной и клеточной радиационной биологии, так и в эпидемиологических исследованиях при оценках рисков воздействия ионизирующего излучения (ИИ) у работников атомной промышленности и пациентов, подвергающихся воздействию медицинских диагностических процедур. В связи с развитием регенеративной медицины особый интерес вызывают исследования эффектов облучения в малых дозах в стволовых клетках, что связано с их высоким пролиферативным потенциалом и возможностью накопления нарушений и мутаций с последующей передачей более высокодифференцированным клеточным потомкам. Использование в трансплантации сингенных и аллогенных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для стимуляции процессов регенерации поврежденных тканей делает исследование их возможной онкотрансформации особенно актуальным. В данном обзоре обобщены существующие к настоящему времени литературные данные по изучению ранних и отдаленных эффектов воздействия ИИ в малых дозах на МСК.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, двунитевые разрывы ДНК, пролиферация, старение, нестабильность генома, канцерогенез, ионизирующее излучение, малые дозы, отдаленные эффекты

DOI: 10.1134/S086980311804015X

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК), также называемые мезенхимальными стромальными клетками, — это тип мультипотентных стволовых клеток, которые играют важную роль в восстановлении различных повреждений органов и тканей взрослого организма. МСК характеризуются высоким пролиферативным потенциалом, способностью к самообновлению, а также дифференцировкой в остео-, хондро- и адипогенном направлениях. При определенных условиях МСК способны дифференцироваться также во многие другие типы клеток мезодермального, эктодермального и энтодермального происхождения [1], включая эндотелиальные клетки [2], кардиомиоциты, гепатоциты [3] и нейральные клетки [4]. Помимо костного мозга и жировой ткани МСК, были обнаружены во многих органах и тканях, включая скелетные мышцы [5] и печень [3].

Способность дифференцироваться в различных направлениях, сильные иммуномодулирующие свойства, а также секреция противовоспалительных молекул делают МСК эффективным инструментом для лечения различных патологий, в

том числе для устранения последствий лучевой терапии. Так, была показана эффективность использования МСК для лечения радиационно-индуцированных повреждений кожи [6], сердца [7], кишечника [8] и легких [9]. При этом трансплантируемые МСК способны не только напрямую замещать поврежденные клетки, но и изменять клеточное микроокружение путем секреции различных факторов. МСК служат важнейшим источником факторов роста и цитокинов, принимающих участие в регуляции регенерации тканей. Так, в костном мозге именно МСК продуцируют факторы, необходимые для самоподдержания гемопоетических стволовых клеток и удержания их в нише, включая SDF-1 α (фактор стромы-1 α), SCF (фактор стволовых клеток), ангиопоэтин-1 и интерлейкин-7. МСК продуцируют ангиогенные и нейротрофные факторы роста, включая VEGF (фактор роста сосудистого эндотелия), bFGF (основной фактор роста фибробластов), HGF (фактор роста гепатоцитов), ангиопоэтин, NGF (фактор роста нервов), BDNF (нейротрофный фактор головного мозга) и GDNF (нейротрофный фак-

тор глиальных клеток) [10]. Существует предположение, что через секрецию различных факторов МСК также способны увеличивать эффективность репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК [7].

Тем не менее, несмотря на все положительные стороны использования МСК, полноценная клеточная терапия ограничена рядом нерешенных вопросов. Одним из них является недостаточное количество МСК, получаемое от донора, что требует их экспансии *in vitro*. В то же время длительное культивирование МСК приводит к старению клеток, ухудшению клеточной дифференцировки, фокальной адгезии, дисфункции митохондрий [11], хромосомным aberrациям и увеличению риска онкотрансформации [12].

Другим ограничением является необходимость выяснения последствий воздействия на МСК ионизирующих излучений (ИИ) в малых дозах. В то время, как экспериментальная радиационная биология традиционно сфокусировалась на ранних радиационных эффектах, таких как повреждение и репарация ДНК, цитогенетические нарушения, клеточная гибель, существенно меньшее внимание уделяется отдаленным последствиям воздействия ИИ, особенно при воздействии ИИ в малых дозах [13]. Как известно, ИИ успешно применяется в медицине для различных диагностических процедур, включая маммографию и компьютерную томографию. Используемые в данных процедурах малые дозы ИИ (10–100 мГр) необходимы для того, чтобы собрать данные о текущем заболевании без побочных эффектов. Тем не менее до сих пор ведутся споры об увеличении рисков возникновения злокачественных новообразований даже при облучении в малых дозах. Возможность облучения МСК при воздействии ИИ во время лучевой терапии, где тотальная доза для немишенных органов может достигать 298 ± 194 мЗв [14], также требует выяснения вопросов точности репарации ДНК после воздействия облучения в малых дозах. Существует большой риск возникновения вторичных опухолей, которые могут проявить себя спустя годы после прекращения терапии. Известно, что МСК обладают тропностью в отношении опухолей. На различных моделях было показано, что МСК могут как стимулировать рост и метастазирование опухоли за счет супрессии иммунного ответа, усиления васкулогенеза и активации эпителиально-мезенхимального перехода, так и наоборот, оказывать ингибирующее воздействие за счет секреции факторов, вызывающих гибель опухолевых клеток [15].

Принимая во внимание, что МСК способны дифференцироваться в остеогенном направлении, некоторые исследователи предполагают, что в результате лучевой терапии увеличивается риск

развития остеосаркомы [16]. Так, у детей, подвергающихся лучевой терапии, остеосаркомы являются одним из наиболее распространенных типов вторичных опухолей [17]. Остеосаркома связана с мутацией гена *Rb1* и других генов-онкосупрессоров [18]. Выключение этого гена приводило к накоплению повреждений ДНК, снижению пролиферации и индукции старения в МСК, подвергшихся воздействию рентгеновского излучения в малых дозах [19]. В отсутствие должной элиминации поврежденные клетки являются основным источником мутаций, приводящих к их трансформации. С другой стороны, есть работы, свидетельствующие о том, что МСК в стрессовых условиях увеличивают миграцию и резистентность к апоптозу клеток остеосаркомы [20].

Последствия воздействия ИИ в малых дозах с точки зрения возможных благоприятного, нейтрального или неблагоприятного исходов должны занимать значительно место в поле зрения будущих исследований. При этом большое внимание следует уделять значимости и механизмам немишенных эффектов в необлученных клетках, которые получают сигналы от облученных (эффект свидетеля), и эффектам, наблюдаемым в потомстве облученных клеток (радиационно-индуцированная нестабильность генома) [13, 21]. В то же время стабильность генома определяется способностью клетки эффективно осуществлять ответ на повреждения ДНК, возникающие как в результате эндогенных процессов (например, при ошибках репликации), так и при воздействии внешних стрессовых факторов, в том числе радиационного.

Поскольку МСК самообновляются на протяжении всей жизни, они способны накапливать генетические повреждения, которые подвергают риску генетическую стабильность [22]. Генетическая нестабильность тесно ассоциирована с онкоконформацией, предполагаемыми механизмами которой являются некорректная репарация ДНК и дисфункция теломер в сочетании с задержкой клеточного цикла. Стволовые клетки способны избегать генетической нестабильности путем массивной элиминации поврежденных клеток, что может привести к ухудшению функциональности клеточной линии. С другой стороны, устойчивость к облучению, приводящая к выживанию клеток с нерепарируемыми повреждениями ДНК, приводит к накоплению генетических нарушений. Таким образом, реакция МСК на воздействие ИИ является тонкой гранью между поддержанием тканевого гомеостаза и генетической стабильностью [23].

РЕПАРАЦИЯ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК

Среди различных повреждений ДНК, вызванных физическими, химическими и биологическими агентами, ДР являются наиболее опасными. Именно они запускают реакции, затрагивающие почти каждый аспект клеточного метаболизма, и объединяются термином “реакция на повреждение ДНК” (от англ. DNA – damage response (DDR)) [24]. В отличие от однонитевых разрывов, где потерянная генетическая информация может быть восстановлена с помощью комплементарной нити, точное восстановление ДР становится проблематичным. В дополнение к потере генетической информации ДР ДНК могут приводить к фрагментации, потере и перестройкам хромосом [25], инактивации генов-супрессоров опухолей (например, потеря гетерозиготности), активировать протоонкогены или индуцировать лекарственную устойчивость после лечения с использованием цитостатических препаратов [26].

Репарация ДР ДНК включает два основных механизма: гомологическую рекомбинацию (ГР) и негомологичное соединение концов (НГСК). НГСК репарирует до 80% всех ДР ДНК и может осуществляться на любой стадии клеточного цикла [27]. ГР ограничена S/G_2 фазами клеточного цикла, но является более точным способом репарации ДР ДНК, поскольку осуществляется при наличии матрицы – неповрежденной гомологичной сестринской хроматиды [28].

Одним из первых этапов запуска систем репарации ДР ДНК является фосфорилирование в областях хроматина, прилегающих к ДР, порядка 2000 тыс. копий корового гистона H2AX по серину-139 с образованием динамических микроструктур – фокусов γ H2AX [29, 30]. Полагают, что соотношение количества фокусов γ H2AX и ДР при воздействии редкоизионизирующего излучения составляет $\sim 1 : 1$, и, таким образом, количество ДР ДНК и их локализация в клеточном ядре могут быть напрямую оценены путем иммуноцитохимического анализа [31].

Кинетика образования и деградации фокусов γ H2AX после воздействия ИИ была изучена достаточно подробно [32, 33]. Многочисленные исследования привели к выводу, что существует два типа фокусов γ H2AX. Первый тип – это переходные фокусы, связанные с быстрым распознаванием ДР ДНК и процессом дефосфорилирования γ H2AX до H2AX, обычно занимающим от нескольких минут до часов. Второй тип – это длительно персистирующие или остаточные фокусы [34]. Они могут присутствовать в течение дней–месяцев после образования ДР. Остаточные фокусы γ H2AX могут представлять собой как ДР ДНК, подвергающиеся медленному процессу репарации, так и свидетельствовать о нерепарируе-

мых повреждениях, сигнализируя о процессах старения, апоптоза, либо находиться в теломерных последовательностях [35]. Существуют экспериментальные доказательства, что фокусы γ H2AX способны передаваться следующей клеточной генерации (проходить через митоз) и служить своеобразным индикатором накопления генетических нарушений [36].

В 2003 г. Розкамм и Лобрич на основании изучения кинетики фокусов γ H2AX показали, что ДР, индуцированные в культурах непролиферирующих фибробластов человека рентгеновским излучением в очень малых дозах (~ 1 мГр), остаются нерепарируемыми в течение нескольких дней, в отличие от эффективной репарации ДР ДНК, наблюдаемой при облучении в более высоких дозах в тех же клетках [37]. Полагают, что данный феномен обусловлен неэффективной репарацией ДР ДНК, индуцированной облучением в малых дозах [38], и индуцибельным характером репарации ДР ДНК [39], когда репарация ДР ДНК запускается только после достижения определенного порогового количества повреждений ДНК в геноме.

Существует мнение, что клетки млекопитающих не могут обеспечивать эффективную репарацию ДР ДНК, индуцируемых малыми дозами ИИ, в связи с отсутствием индукции G_2/M чекпоинт-ареста и наличием ограничений доступа компонентов систем репарации ДР к участкам ДНК в составе хроматина [40]. Это означает, что G_2/M чекпоинт-арест не поддерживает репарацию ДР, когда их количество менее чем 10–20 на клетку [40]. ДР ДНК гетерохроматина сохраняются в течение длительного времени после облучения, в связи с необходимостью его “вскрытия” для доступа компонентов систем репарации к поврежденным участкам ДНК. При малых дозах ИИ гетерохроматин еще меньше релаксируется, и доступ ферментов репарации к повреждениям ДНК более ограничен. Таким образом, присутствие длительно персистирующих фокусов γ H2AX также может быть результатом присутствия ДР ДНК в участках гетерохроматина, где репарация осуществляется медленнее. Чем плотнее упаковка хроматина, тем большей реорганизации он подвергнется в процессе репарации, которые могут оказаться необратимыми. Т.е., данные фокусы могут также свидетельствовать о реорганизации структуры хроматина. Такие изменения могут не приводить к остановке клеточного цикла и передаваться потомству. Таким образом, наследуемые персистирующие фокусы могут отражать эпигенетические изменения в структуре хроматина потомства облученных клеток [41].

Для МСК, подвергшихся воздействию ИИ в малых дозах, также характерно длительное при-

сутствие фокусов γ H2AX [42], что может свидетельствовать о неэффективности репарации ДР ДНК [43]. В то же время ядерная организация МСК глобально более открыта и благоприятна для экспрессии генов, и только с дифференциацией становится более компактной в различных областях генома. Открытая конформация позволяет белкам легко взаимодействовать с хроматином, что облегчает процесс остановки клеточного цикла и репарацию ДНК в поврежденных клетках [23]. В данном случае длительное присутствие ДР ДНК в МСК, подвергшихся облучению в малых дозах, можно объяснить их образованием *de novo* в результате ошибок репликации на фоне характерной для малых доз стимуляции клеточной пролиферации [42].

Так, полимеразный комплекс, натываясь на повреждение ДНК (брешь, образовавшаяся в результате эксцизионной репарации, межнитевые сшивки), останавливается, в то время как хеликаза продолжает раскручивать родительскую цепь ДНК, приводя к формированию длинных одноцепочечных нитей. Эта одноцепочечная ДНК связывается с фактором репликации A и служит сигналом для связывания белков, участвующих в реакции на репликативный стресс. Одним из таких белков является ATR. ATR фосфорилирует субстраты, необходимые для завершения репликации, а также фосфорилирует γ H2AX. Похожим образом происходит фосфорилирование γ H2AX в результате образования спонтанных ДР ДНК в клетках, не подвергавшихся облучению, под влиянием образующихся в процессе клеточного метаболизма АФК, ошибок репликации и рекомбинации, а также спонтанных химических модификаций. Активация ATR необходима для стабилизации и перезапуска вилки репликации [44]. В случае, если стабилизировать вилку репликации невозможно, происходит ее коллапс [45]. Это достаточно редкое событие происходит в отсутствие ATR-зависимой сверточной точки репликации и приводит к образованию ДР ДНК. Известно, что повреждения ДНК, образующиеся в результате остановки и коллапса репликативной вилки, репарируются путем медленного, но более корректного механизма ГР [46] и поэтому в целом представляют меньшую опасность для дальнейшей судьбы клетки по сравнению с радиационно-индуцированными ДР [47].

Однако при оценке репарации ДР ДНК важно понимать, что исчезновение фокусов γ H2AX, т.е. их дефосфорилирование с помощью фосфатазы 2A свидетельствует лишь о процессе лигирования ДР ДНК, но никак не оценивает его роль в дальнейшей судьбе клетки. Поскольку около 80% радиационно-индуцированных ДР ДНК репарируются путем НГСК [27], который может приводить к потере генетической информации, необходимы целенаправленные исследования проявлений от-

даленных эффектов в потомстве клеток, подвергшихся воздействию ИИ в малых дозах.

Стоит упомянуть, что при использовании первичной культуры клеток в качестве экспериментальной модели важное значение имеет номер клеточного пассажа, на который пришлось облучение. Многочисленные исследования показали, что длительное культивирование МСК приводит к возникновению связанных со старением изменений [48], снижению клеточных функций, снижению регуляции генов, участвующих в пролиферации, ухудшению фокальной адгезии, дисфункции митохондрий, а также увеличению количества ДР ДНК [11, 48]. Накопление ДР ДНК может свидетельствовать о генетической нестабильности и приводить к снижению дифференциального потенциала МСК [49]. Также МСК на ранних пассажах более устойчивы к воздействию ИИ и других ДНК-повреждающих факторов, чем на поздних пассажах. На ранних пассажах процесс репарации ДР ДНК в МСК осуществляется более эффективно. Он является АТМ-зависимым и связан с повышенными уровнями PARP-1 — фермента, участвующего в репарации поврежденных ДНК и ремоделировании хроматина за счет поли-АДФ-рибозилирования гистонов [50]. В то же время облученные ИИ МСК на ранних пассажах обладают более эффективной остановкой клеточного цикла в G_2/M фазе, где, как известно, вступает в силу репарация ДР ДНК по пути ГР. Учитывая, что МСК, облученные на поздних пассажах, пребывают в фазе G_0/G_1 , репарация по подверженному ошибкам пути НГСК является основным путем и может приводить к еще большим генетическим изменениям. Снижение способности МСК репарировать ДР ДНК на поздних пассажах одновременно с нарушением клеточного цикла связано с накоплением со временем поврежденных ДНК вследствие их некорректной репарации [51]. В дальнейшем они приводят к мутациям, снижению клеточных функций, старению и увеличению риска онкотрансформации.

ПРОЛИФЕРАЦИЯ

Стимулирующее действие ИИ в малых дозах на пролиферацию было описано для множества типов клеток [52], в том числе для МСК. В исследовании Лян и соавт. было показано стимулирующее действие ИИ в малых дозах на клеточную пролиферацию костного мозга крыс через MAPK /ERK сигнальные пути [53]. Облучение в дозе 75 мГр вызывало значительное увеличение доли клеток в S-фазе через 2–6 ч после облучения. В дальнейшем это нашло подтверждение в работе Ян и соавт. [54], где облучение в той же дозе (75 мГр) вызывало стимуляцию пролиферации МСК костного мозга человека, а также увеличение доли клеток в S-фазе одновремен-

но с секреций SCF и IL-11 через 24 ч. Причем на 4–7-й день после облучения в малых дозах пролиферация клеток была значительно выше, чем у необлученных. Основные механизмы стимулирующего воздействия ИИ в малых дозах на пролиферацию МСК костного мозга, по мнению авторов, опосредуются белками и молекулами, связанными с остановкой клеточного цикла, такими как Rb, cyclin E, CDK1 и CDC25B. Стимулирующим действием ИИ в малых дозах на пролиферацию МСК костного мозга можно объяснить ускоренное заживление ран на коже крыс, больных диабетом. Это явление сопровождалось увеличением количества клеток костного мозга и циркулирующих МСК (обладающих CD31(+) маркерами стволовости и CD34(+) эндотелиальными маркерами), регенерацией сосудов, клеточной пролиферацией в поврежденной ткани, а также экспрессией матриксных металлопротеиназ 2 и 9 [55]. На 7-е сут после облучения в дозах 10–100 мГр обнаружено статистически значимое увеличение количества МСК головного мозга мышей линии C57BL/6 на 30–40% по сравнению с контролем. При облучении нейтральных стволовых клеток (НСК) количество клеток возрастало на 15–20% в дозах 10–50 мГр, что также свидетельствует о стимуляции пролиферации НСК при воздействии ИИ в малых дозах. В то же время существенных изменений в количестве МСК костного мозга не наблюдалось [56].

В работе Фуйиширо и соавт. наблюдалось незначительное снижение экспансии МСК костного мозга после воздействия γ -излучения в дозе 100 мГр, а затем ее последующее восстановление до контрольного уровня через 14 дней после облучения [57]. Показано, что облучение в этой дозе влияет на дифференционную способность МСК незначительно. Более того, через 3 нед. после воздействия γ -излучения характеристики облученных МСК (уровень экспрессии IL-6, SCF и Flt3L) соответствовали таковым для необлученных клеток. В то же время в работе Алессио и соавт. наблюдали снижение клеточной пролиферации и доли клеток в S-фазе через 48 ч после воздействия ИИ в дозе 40 мГр [43].

Таким образом, оценка влияния ИИ в малых дозах на изменение клеточной пролиферации МСК вызывает противоречия и требует дальнейших исследований. Необходимо заметить, что клеточный пассаж также играет роль при оценке пролиферации после облучения. На ранних пассажах МСК обладают лучшей колониеобразующей способностью, нежели на поздних пассажах. При длительном культивировании *in vitro* МСК костного мозга человека наблюдается постепенное снижение пролиферативной активности клеток. Так, МСК 3-го и 4-го пассажа обладают значительно более высокой пролиферативной активностью по сравнению с культурами 10–12-го пасса-

жа, где кратность прироста клеток может составить 5.88 и 2.03 раза соответственно [58].

СТАРЕНИЕ

Клеточное старение возникает в культуре *in vivo* в ответ на значительный внутриклеточный и внеклеточный стресс (укорачивание теломер, дисфункция митохондрий, оксидативный стресс, генотоксический стресс, экспрессия онкогенов). Важным признаком старения является неспособность клетки вступать в клеточный цикл [59]. В стареющих клетках наблюдается остановка клеточного цикла в G₁-фазе и, несмотря на все необходимые ростовые условия, клетка неспособна осуществлять репликацию ДНК. Таким образом программа старения препятствует передаче повреждений последующим поколениям, предотвращает злокачественную трансформацию клеток и способствует удалению таких клеток иммунной системой организма. Тем не менее, если образование стареющих клеток превосходит их удаление иммунной системой или если иммунная система не способна эффективно удалять стареющие клетки, как это происходит в результате воздействия ИИ, то они способны накапливаться в тканях [60].

Клетки, подвергающиеся старению, характеризуются рядом особенностей: остановкой клеточного цикла, изменением морфологии и организации хроматина, изменением экспрессии генов, повышением активности старение-ассоциированной- β -галактозидазы (СА- β -галактозидазы) в цитоплазме и др. [61]. В то время как индукция процессов клеточного старения, вызванная лучевой и химиотерапией, направлена на быстрое подавление пролиферации опухолевых клеток, сам процесс клеточного старения является достаточно продолжительным во времени. Он сопровождается секрецией множества факторов (противовоспалительных цитокинов, гемокинов, факторов роста, протеаз, нерастворимых белков/компонентов внеклеточного матрикса), которые объединены общим названием “секреторный фенотип, ассоциированный со старением” (от англ. senescence-associated secretory phenotype (SASP)) [62]. Через секрецию данных факторов стареющие клетки способны активировать различные рецепторы на клеточной поверхности и соответствующие пути передачи сигнала, воздействовать на процессы пролиферации, дифференцировки и выживания соседних клеток. В результате вокруг стареющих клеток может создаваться микроокружение, благоприятное для роста и размножения клеток со злокачественным фенотипом. Таким образом, несмотря на то, что клеточное старение является механизмом, подавляющим риск злокачественной трансформации поврежденных клеток, секреторная активность стареющих клеток

также может изменять тканевое микроокружение и способствовать развитию опухоли [63].

В недавнем исследовании Студенца и соавт. показано, что воздействие γ -излучения на культуры фибробластов человека приводит к образованию популяции клеток, обладающей одновременно признаками старения и апоптоза, так называемого сеноптоза (англ. "senoptosis") [64]. Воздействие γ -излучения в дозе 10 Гр приводило к образованию устойчивой суб- G_1 популяции стареющих клеток, которые, тем не менее, не обладали SASP. В то же время высвобождение митохондриальной эндонуклеазы G в этих клетках вызвало нелетальное расщепление поврежденной ДНК, таким образом свидетельствуя о проявлении апоптоза. Однако это не приводило к увеличению клеточной гибели. Возможно, явление сеноптоза характерно только для действия ИИ в больших дозах, поскольку действие эндонуклеазы G скорее обусловлено ускоренной репарацией большого количества ДР ДНК и ведет к необратимой остановке клеточного цикла.

В исследовании Алессио и соавт. облучение МСК в дозе 40 мГр приводило к снижению аутофагии и индукции клеточного старения через 6–48 ч после облучения [43]. Снижение уровня аутофагии в облученных МСК в работе Алессио и соавт. также может являться вкладом в увеличение клеточного старения, поскольку эти два механизма тесно связаны между собой и используются клеткой для защиты от стрессового воздействия [65]. Не наблюдалось увеличения клеточной гибели и в работе Хофиг и соавт. после облучения МСК костного мозга мышей в дозе 100 мГр, в то время как разница между количеством β -галактозидаза-позитивных клеток в контрольной и облученной группах через 7 дней после облучения составила ~10% [66].

Облучение МСК в дозе 40 мГр также приводило к изменению клеточного метаболизма и снижению способности использовать жирные кислоты и глутамин в качестве клеточного топлива. Снижение протеасомной активности, т.е. способности расщеплять поврежденные внутриклеточные белки с помощью треоновых протеаз, также было характерно для этих клеток [67]. В МСК, облученных в дозе 100 мГр, в первые 24 ч после облучения наблюдался повышенный уровень секретирования IL6 [57], что также может свидетельствовать об индукции клеточного старения. Однако данное явление наблюдалось только в двух из пяти исследуемых образцах и через 3 нед после воздействия практически не отличалось от контрольного уровня. Возможно, что различия в реакции клеток на облучение связаны с различной чувствительностью к воздействию ИИ.

Продолжительность жизни МСК *in vitro* составляет ~20–40 удвоений [68], после чего клетки

вступают в репликативное старение. Но уже на поздних пассажах популяция может проявлять старение-ассоциированный фенотип и снижение пролиферации [69]. Пути опухолевой супрессии p53-Rb и p53-Rb2 играют важную роль в запуске клеточного старения, связывая распознавание повреждения ДНК и остановку клеточного цикла [70]. Ведущую роль в процессе клеточного старения играет накопление микроструктурных хромосомных нарушений, возникающих вследствие некорректной репарации ДР ДНК [51]. Среди них важную роль в запуске программы клеточного старения играют ДР ДНК, образующиеся в теломерных последовательностях. Поскольку репарация ДР в теломерных последовательностях затруднена, они способны накапливаться со временем. Об этом свидетельствует длительное присутствие фокусов γ H2AX в теломерной ДНК [71]. Активные формы кислорода (АФК), образующиеся в результате старение-ассоциированной дисфункции митохондрий, вызывают еще больший уровень повреждения ДНК и образование оксидативных повреждений ДНК в теломерных последовательностях [72]. Таким образом, продукция АФК в клетках увеличивается пропорционально длительности клеточного культивирования. Заслуживает внимания факт, что МСК с высоким уровнем экспрессии каталитической субъединицы теломеразы (hTERT) на поздних пассажах обладали значительно меньшим количеством повреждений ДНК по сравнению с контрольными клетками на тех же пассажах [73]. Это, вероятно, также свидетельствует о тесной связи внеклеточной продукции АФК с укорачиванием теломер при старении клеток.

РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА

Повреждение ДНК, присутствие повышенного уровня АФК, дисфункция митохондрий, повышенная секреция цитокинов и эпигенетические изменения могут приводить к радиационно-индуцированной нестабильности генома (РИНГ) [74]. РИНГ определяется как структурно-функциональное непостоянство генетического материала, возникающего в потомках многократно поделившихся клеток, подвергшихся воздействию радиации, проявляющегося повреждениями структуры ДНК, конформационными изменениями хроматина, абберациями хромосом, сестринскими хроматидными обменами, анеуплоидиями, внеплановой экспрессией генов, генными и хромосомными мутациями, что приводит к нарушению геномного баланса и сопровождается развитием клеточной дисфункции, малигнизацией, гибелью клеток [75, 76]. Одним из механизмов развития РИНГ является гиперпродукция АФК в ответ на стрессовое воздействие [13]. В потомстве облу-

ченных клеток с РИНГ наблюдалась повышенная продукция АФК, образующихся в результате дисфункции митохондрий [77]. АФК, в свою очередь, индуцируют окислительные повреждения ДНК и, как следствие, приводят к повышению частоты хромосомных aberrаций и клеточной гибели [78].

В экспериментах с нейральными стволовыми клетками протонное облучение в дозе 100 мГр приводило к повышенному уровню образования АФК в течение 48 ч после воздействия [79]. В свою очередь, повышенная продукция АФК, вызванная фракционированным воздействием ИИ в малых дозах, способна приводить к активации АКТ/cyclin D1 сигнального пути и, как следствие, нарушению репликации ДНК, образованию ДР, старению и генетической нестабильности облученных клеток [80]. Однако в культивируемых на протяжении восьми пассажей после облучения в дозе 80 мГр первичных МСК человека не наблюдалось таких эффектов проявления РИНГ, как увеличение количества повреждений ДНК [34]. Напротив, данные показатели практически не отличались от контрольных.

На проявление РИНГ также может оказывать влияние проявление эффекта свидетеля, заключающегося в передаче сигналов от облученных клеток к необлученным [81]. Так, генотоксический стресс, вызванный секретирруемыми МСК сигналами воспаления в мышечных моделях с синдромом Швахмана–Даймонда, приводил к дисфункции митохондрий, окислительному стрессу и реакции на повреждение ДНК в гематопозитических стволовых и прогениторных клетках. Активация р53-S100A8/9-TLR пути воспаления в этих клетках свидетельствовала о развитии миелодиспластического синдрома, принципиального предшественника острого лейкоза [82]. Секретирруемые внеклеточные везикулы, выделенные из МСК костного мозга облученных мышей, были также ответственны за проявление радиационно-индуцированного эффекта свидетеля (РИЭС) в клетках селезенки и костного мозга мышей линии C57BL/6. Анализ уровня мРНК в секретирруемых везикулах показал, что у мышей, облученных в дозе 100 мГр, уровень экспрессии 20 из 500 исследуемых мРНК отличался от контрольного уровня. Эти мРНК оказывали влияние на 33 различных метаболических пути, включающих репарацию ДНК, сигнальный путь TGF β , сигнальные пути, регулирующие плюрипотентность стволовых клеток и др. [83]. Таким образом, МСК могут быть потенциальными мишенями для генетических и эпигенетических изменений, приводящих к радиационному канцерогенезу.

КАНЦЕРОГЕНЕЗ

В середине 1990-х годов большое количество исследований привело к возникновению концеп-

ции опухолевых стволовых клеток (ОСК) [84, 85]. Данная концепция предполагает, что нормальные стволовые клетки могут быть трансформированы в опухолевые, а прогениторные стволовые клетки могут быть трансформированы в прогениторные ОСК. В свою очередь прогениторные ОСК способны образовывать дифференцированные клетки, составляющие основу опухоли [86]. Данная концепция объясняет явление гетерогенности опухолевой ткани, а также признана приоритетной для многих исследований, в частности, в проблеме развития резистентности к лучевой и химиотерапии и рецидивирования новообразований.

Важным в данном случае является вопрос: какую роль играет воздействие ИИ в трансформации стволовых клеток в ОСК и может ли она быть вызвана воздействием ИИ в малых дозах? К сожалению, существующие в настоящее время литературные данные затрагивают в основном влияние средних и больших доз ИИ (>100 мГр). Так, культивируемые в течение 6 мес после воздействия γ -излучения в дозе 2.5 Гр МСК формировали опухоли после трансплантации иммунодефицитным мышам. Также в этих клетках наблюдались ускоренное укорачивание теломер и повышенный уровень анафазных мостиков [87].

Похожие результаты были получены в работе Москалёвой и соавт. [89]. Опухоли были обнаружены у двух из пяти мышей и у пяти из пяти мышей после трансплантации им МСК костного мозга облученных в дозе 1 и 6 Гр соответственно. Впоследствии новообразования были охарактеризованы как многокомпонентные мезенхимомы (“смесь сарком”) [88]. В то же время при подкожном введении облученных в дозе 100 мГр длительно культивируемых МСК костного мозга и МСК головного мозга мышей линии C57BL/6 опухоли обнаружены не были. Это может быть связано со стимуляцией репарации спонтанных повреждений ДНК при этом воздействии, поскольку через 24 ч после облучения количество фокусов γ H2AX, свидетельствующих о присутствии ДР ДНК в этих клетках, было ниже контрольного уровня [89]. Облучение в дозе 40 мГр первичной культуры МСК костного мозга с инактивированным геном *RB1* приводило к накоплению ДР ДНК в течение 48 ч после воздействия, при этом клетки не подвергались апоптозу или старению. Это свидетельствует о том, что данные клетки могут стать источником мутаций с последующей онкотрансформацией. Однако в колониеобразующем анализе в мягком агаре данные клетки не проявляли свободный (“безъякорный”) рост и таким образом не являлись трансформированными [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то что МСК являются относительно радиорезистентной популяцией клеток

взрослого организма, стало очевидно, что они могут служить потенциальными мишенями для воздействия ИИ и приводить к проявлению отдаленных эффектов в различных органах и тканях. ИИ может влиять на генетическую стабильность МСК, однако до сих пор не выяснено, влияет ли воздействие радиации в малых дозах на трансформацию стволовых клеток в опухолевые. Поскольку МСК локализованы в специализированной строме, или нише, их реакция на различные стимулы (включая ИИ) во многом зависит от микроокружения и от условий (в первую очередь оксигенации), в которой они находятся. Межклеточная сигнализация может приводить к иммунным и воспалительным реакциям, которые могут играть значимую роль в развитии канцерогенеза. Дальнейшие исследования крайне необходимы для понимания процессов, возникающих в МСК в ответ на ИИ.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-01810-а и государственного задания ФАНО России (Тема 0082-2018-0005, № АААА-А18-118020690203-8).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ullah I., Subbarao R.B., Rho G.J. Human mesenchymal stem cells – current trends and future prospective // Biosci. Rep. 2015. V. 35. № 2. P. e00191
2. Konno M., Hamazaki T.S., Fukuda S. et al. Efficiently differentiating vascular endothelial cells from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in serum-free culture // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2010. V. 400. № 4. P. 461–465.
3. Wang Y., Yu X., Chen E., Li L. Liver-derived human mesenchymal stem cells: a novel therapeutic source for liver diseases // Stem. Cell Res. Ther. 2016. V. 7. № 1. P. 71.
4. Morikawa S., Mabuchi Y., Niibe K. et al. Development of mesenchymal stem cells partially originate from the neural crest // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2009. V. 379. № 4. P. 1114–1119.
5. Chan C.K., Seo E.Y., Chen J.Y. et al. Identification and specification of the mouse skeletal stem cell // Cell. 2015. V. 160. № 1–2. P. 285–298.
6. Еремин П.С., Пигалева Н.А., Мурзабеков М.Б. и др. Исследование эффективности применения аутологических клеточных продуктов на основе жировой ткани для терапии тяжелых местных лучевых повреждений. // Саратовский науч.-мед. журн. 2014. Т. 10. № 4. С. 838–844.
7. Gao S., Zhao Z., Wu R. et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves radiation-induced heart injury through DNA damage repair in rat model // Radiat. Environ. Biophys. 2017. V. 56. № 1. P. 63–77.
8. Gong W., Guo M., Han Z. et al. Mesenchymal stem cells stimulate intestinal stem cells to repair radiation-induced intestinal injury // Cell Death. Dis. 2016. V. 7. № 9. P. e2387.
9. Perez J.R., Ybarra N., Chagnon F. et al. Tracking of Mesenchymal Stem Cells with Fluorescence Endomicroscopy Imaging in Radiotherapy-Induced Lung Injury // Sci. Rep. 2017. V. 7. P. 40748.
10. Калинина Н.И., Сысоева В.Ю., Рубина К.А. и др. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей // Acta. Naturae. 2011. Т. 3. № 4. С. 32–39.
11. Geissler S., Textor M., Kuhnisch J. et al. Functional comparison of chronological and in vitro aging: differential role of the cytoskeleton and mitochondria in mesenchymal stromal cells // PLoS One. 2012. V. 7. № 12. P. 1–13.
12. Barkholt L., Flory E., Jekerle V. et al. Risk of tumorigenicity in mesenchymal stromal cell-based therapies—bridging scientific observations and regulatory viewpoints // Cytotherapy. 2013. V. 15. № 7. P. 753–759.
13. Morgan W.F., Bair W.J. Issues in low dose radiation biology: the controversy continues. A perspective // Radiat. Res. 2013. V. 179. № 5. P. 501–510.
14. Uselmann A.J., Thomadsen B.R. On effective dose for radiotherapy based on doses to nontarget organs and tissues // Med. Phys. 2015. V. 42. № 2. P. 977–982.
15. Калмыкова Н.В., Александрова С.А. Терапевтическое действие мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток после радиационного воздействия // Радиационная биология. Радиозэкология. 2016. Т. 56. № 2. С. 117–137.
16. Alessio N., Capasso S., Di Bernardo G. et al. Mesenchymal stromal cells having inactivated RB1 survive following low irradiation and accumulate damaged DNA: Hints for side effects following radiotherapy // Cell Cycle. 2017. V. 16. № 3. P. 251–258.
17. Taran S.J., Taran R., Malipatil N.B. Pediatric Osteosarcoma: An Updated Review // Ind. J. Med. Paediatr. Oncol. 2017. V. 38. № 1. P. 33–43.
18. Chen X., Bahrami A., Pappo A. et al. St. Jude Children's Research Hospital-Washington University Pediatric Cancer Genome P. Recurrent somatic structural variations contribute to tumorigenesis in pediatric osteosarcoma // Cell Rep. 2014. V. 7. № 1. P. 104–112.
19. Alessio N., Esposito G., Galano G. et al. Irradiation of Mesenchymal Stromal Cells With Low and High Doses of Alpha Particles Induces Senescence and/or Apoptosis // J. Cell Biochem. 2017. V. 118. № 9. P. 2993–3002.
20. Vallabhaneni K.C., Hassler M.Y., Abraham A. et al. Mesenchymal Stem/Stromal Cells under Stress Increase Osteosarcoma Migration and Apoptosis Resistance via Extracellular Vesicle Mediated Communication // PLoS One. 2016. V. 11. № 11. P. e0166027.
21. Пелевина И.И., Афанасьев Г.Г., Алещенко А.В. и др. Молекулярные и клеточные последствия аварии на ЧАЭС. // Радиационная биология. Радиозэкология. 2011. Т. 51. № 1. С. 154–161.
22. Tsvetkova A., Ozerov I.V., Pustovalova M. et al. gammaH2AX, 53BP1 and Rad51 protein foci changes in mesenchymal stem cells during prolonged X-ray irradiation // Oncotarget. 2017. V. 8. № 38. P. 64317–64329.
23. Harfouche G., Martin M.T. Response of normal stem cells to ionizing radiation: a balance between homeo-

- stasis and genomic stability // *Mutat. Res.* 2010. V. 704. № 1–3. P. 167–174.
24. *Mladenov E., Magin S., Soni A., Iliakis G.* DNA double-strand-break repair in higher eukaryotes and its role in genomic instability and cancer: Cell cycle and proliferation-dependent regulation // *Semin. Cancer Biol.* 2016. V. 37–38. P. 51–64.
 25. *Hoeijmakers J.H.* DNA damage, aging, and cancer // *N. Engl. J. Med.* 2009. V. 361. № 15. P. 1475–1485.
 26. *Ramachandran C., Melnick S.J.* Multidrug resistance in human tumors-molecular diagnosis and clinical significance // *Mol. Diagn.* 1999. V. 4. № 2. P. 81–94.
 27. *Kakarouglakos A., Jeggo P.A.* DNA DSB repair pathway choice: an orchestrated handover mechanism // *Br. J. Radiol.* 2014. V. 87. № 1035. P. 20130685.
 28. *Iliakis G.* Backup pathways of NHEJ in cells of higher eukaryotes: cell cycle dependence // *Radiother. Oncol.* 2009. V. 92. № 3. P. 310–315.
 29. *Paull T.T., Rogakou E.P., Yamazaki V. et al.* A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage // *Curr. Biol.* 2000. V. 10. № 15. P. 886–95.
 30. *Osipov A.N., Grekhova A., Pustovalova M. et al.* Activation of homologous recombination DNA repair in human skin fibroblasts continuously exposed to X-ray radiation // *Oncotarget.* 2015. V. 6. № 29. P. 26876–26885.
 31. *Kotenko K.V., Bushmanov A.Y., Ozerov I.V. et al.* Changes in the number of double-strand DNA breaks in Chinese hamster V79 cells exposed to gamma-radiation with different dose rates // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. № 7. P. 13719–13726.
 32. *Грехова А.К., Еремин П.С., Осипов А.Н. и др.* Замедленные процессы образования и деградации фокусов γ H2AX в фибробластах кожи человека, подвергшихся воздействию рентгеновского излучения в малых дозах // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2015. Т. 55. № 4. С. 395–401.
 33. *Pustovalova M., Grekhova A., Vorobyova N., Osipov A.* ATM-dependent histone H2AX phosphorylation in human gingival mesenchymal stem cells exposed to X-ray radiation at low and intermediate doses // *Abstr. 62nd Ann. Int. Meeting Radiat. Res. Soc.* 2016. P. 409–410.
 34. *Pustovalova M., Astrelina T., Grekhova A. et al.* Residual gammaH2AX foci induced by low dose x-ray radiation in bone marrow mesenchymal stem cells do not cause accelerated senescence in the progeny of irradiated cells // *Aging (Albany NY).* 2017. V. 9. № 11. P. 2397–2410.
 35. *Siddiqui M.S., Francois M., Fenech M.F., Leifert W.R.* Persistent gammaH2AX: A promising molecular marker of DNA damage and aging // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2015. V. 766. P. 1–19.
 36. *Vaurijoux A., Voisin P., Freneau A. et al.* Transmission of persistent ionizing radiation-induced foci through cell division in human primary cells // *Mutat. Res.* 2017. V. 797–799. P. 15–25.
 37. *Rothkamm K., Lobrich M.* Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100. № 9. P. 5057–5062.
 38. *Sugihara T., Murano H., Tanaka K.* Increased γ -H2A.X intensity in response to chronic medium-dose-rate gamma-ray irradiation // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 9. P. e45320.
 39. *Grudzinski S., Raths A., Conrad S. et al.* Inducible response required for repair of low-dose radiation damage in human fibroblasts // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 32. P. 14205–14210.
 40. *Газиев А.И.* Низкая эффективность репарации критических повреждений ДНК, вызываемых малыми дозами радиации // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2011. Т. 51. № 5. С. 512–529.
 41. *Costes S.V., Chiolo I., Pluth J.M. et al.* Spatiotemporal characterization of ionizing radiation induced DNA damage foci and their relation to chromatin organization // *Mutat. Res.* 2010. V. 704. № 1–3. P. 78–87.
 42. *Osipov A.N., Pustovalova M., Grekhova A. et al.* Low doses of X-rays induce prolonged and ATM-independent persistence of γ -H2AX foci in human gingival mesenchymal stem cells // *Oncotarget.* 2015. V. 6. № 29. P. 27275–27287.
 43. *Alessio N., Del Gaudio S., Capasso S. et al.* Low dose radiation induced senescence of human mesenchymal stromal cells and impaired the autophagy process // *Oncotarget.* 2015. V. 6. № 10. P. 8155–8166.
 44. *Zeman M.K., Cimprich K.A.* Causes and consequences of replication stress // *Nat. Cell Biol.* 2014. V. 16. № 1. P. 2–9.
 45. *Cortez D.* Preventing replication fork collapse to maintain genome integrity // *DNA Repair (Amst).* 2015. V. 32. P. 149–157.
 46. *Gelot C., Magdalou I., Lopez B.S.* Replication stress in Mammalian cells and its consequences for mitosis // *Genes (Basel).* 2015. V. 6. № 2. P. 267–298.
 47. *Saleh-Gohari N., Bryant H.E., Schultz N. et al.* Spontaneous homologous recombination is induced by collapsed replication forks that are caused by endogenous DNA single-strand breaks // *Mol. Cell Biol.* 2005. V. 25. № 16. P. 7158–7169.
 48. *Pustovalova M., Grekhova A., Astrelina T. et al.* Accumulation of spontaneous gammaH2AX foci in long-term cultured mesenchymal stromal cells // *Aging (Albany NY).* 2016. V. 8. № 12. P. 3498–3506.
 49. *Alves H., Munoz-Najar U., De Wit J. et al.* A link between the accumulation of DNA damage and loss of multi-potency of human mesenchymal stromal cells // *J. Cell Mol. Med.* 2010. V. 14. № 12. P. 2729–2738.
 50. *Wu P.K., Wang J.Y., Chen C.F. et al.* Early Passage Mesenchymal Stem Cells Display Decreased Radiosensitivity and Increased DNA Repair Activity // *Stem. Cells Transl. Med.* 2017. V. 6. № 6. P. 1504–1514.
 51. *Moehrle B.M., Geiger H.* Aging of hematopoietic stem cells: DNA damage and mutations? // *Exp. Hematol.* 2016. V. 44. № 10. P. 895–901.
 52. *Liang X., Gu J., Yu D. et al.* Low-Dose Radiation Induces Cell Proliferation in Human Embryonic Lung Fibroblasts but not in Lung Cancer Cells: Importance of ERK1/2 and AKT Signaling Pathways // *Dose Response.* 2016. V. 14. № 1. P. 15593258–15622174.
 53. *Liang X., So Y.H., Cui J. et al.* The low-dose ionizing radiation stimulates cell proliferation via activation of the

- MAPK/ERK pathway in rat cultured mesenchymal stem cells // *J. Radiat. Res.* 2011. V. 52. № 3. P. 380–386.
54. *Yang L., Liu Z., Chen C. et al.* Low-dose radiation modulates human mesenchymal stem cell proliferation through regulating CDK and Rb // *Am. J. Transl. Res.* 2017. V. 9. № 4. P. 1914–1921.
 55. *Guo W.Y., Wang G.J., Wang P. et al.* Acceleration of diabetic wound healing by low-dose radiation is associated with peripheral mobilization of bone marrow stem cells // *Radiat. Res.* 2010. V. 174. № 4. P. 467–479.
 56. *Посыпанова Г.А., Москалёва Е.Ю., Родина А.В. и др.* Действие малых и сублетальных доз γ -излучения на мезенхимальные и нейральные стволовые клетки из головного мозга мыши // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2016. Т. 56. № 1. С. 35–43.
 57. *Fujishiro A., Miura Y., Iwasa M. et al.* Effects of acute exposure to low-dose radiation on the characteristics of human bone marrow mesenchymal stromal/stem cells // *Inflamm. Regen.* 2017. V. 37. P. 19.
 58. *Осипова Е.Ю., Никитина В.А., Астрелина Т.А. и др.* Динамика скорости роста, иммунофенотипа и генетическая стабильность мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека на ранних и поздних пассажах при культивировании *ex vivo* // *Онкогематология.* 2009. Т. 1. С. 44–50.
 59. *Hayflick L.* The Limited in Vitro Lifetime of Human Diploid Cell Strains // *Exp. Cell Res.* 1965. V. 37. P. 614–36.
 60. *Wang Y., Boerma M., Zhou D.* Ionizing Radiation-Induced Endothelial Cell Senescence and Cardiovascular Diseases // *Radiat. Res.* 2016. V. 186. № 2. P. 153–161.
 61. *Dimri G.P., Lee X., Basile G. et al.* A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. V. 92. № 20. P. 9363–9367.
 62. *Coppe J.P., Patil C.K., Rodier F. et al.* Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor // *PLoS Biol.* 2008. V. 6. № 12. P. 2853–2868.
 63. *Coppe J.P., Patil C.K., Rodier F. et al.* A human-like senescence-associated secretory phenotype is conserved in mouse cells dependent on physiological oxygen // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 2. P. e9188.
 64. *Studencka M., Schaber J.* Senoptosis: non-lethal DNA cleavage as a route to deep senescence // *Oncotarget.* 2017. V. 8. № 19. P. 30656–30671.
 65. *Gewirtz D.A.* Autophagy and senescence: a partnership in search of definition // *Autophagy.* 2013. V. 9. № 5. P. 808–812.
 66. *Hofig I., Ingawale Y., Atkinson M. J. et al.* p53-Dependent Senescence in Mesenchymal Stem Cells under Chronic Normoxia Is Potentiated by Low-Dose gamma-Irradiation // *Stem. Cells Int.* 2016. V. 2016. P. 6429853.
 67. *Capasso S., Alessio N., Squillaro T. et al.* Changes in autophagy, proteasome activity and metabolism to determine a specific signature for acute and chronic senescent mesenchymal stromal cells // *Oncotarget.* 2015. V. 6. № 37. P. 39457–39468.
 68. *Banfi A., Muraglia A., Dozin B. et al.* Proliferation kinetics and differentiation potential of *ex vivo* expanded human bone marrow stromal cells: Implications for their use in cell therapy // *Exp. Hematol.* 2000. V. 28. № 6. P. 707–715.
 69. *Pustovalova M., Grekhova A., Osipov A.* Characteristics of spontaneous γ H2AX foci accumulation in long-term cultured human mesenchymal stem cells // *FEBS J.* 2017. V. 284. № P. 1.2-007. P. 110–111.
 70. *Hwang E.S.* Senescence suppressors: their practical importance in replicative lifespan extension in stem cells // *Cell Mol. Life Sci.* 2014. V. 71. № 21. P. 4207–4219.
 71. *Fumagalli M., Rossiello F., Clerici M. et al.* Telomeric DNA damage is irreparable and causes persistent DNA-damage-response activation // *Nat. Cell Biol.* 2012. V. 14. № 4. P. 355–365.
 72. *von Zglinicki T., Martin-Ruiz C.M.* Telomeres as biomarkers for ageing and age-related diseases // *Curr. Mol. Med.* 2005. V. 5. № 2. P. 197–203.
 73. *Trachana V., Petrakis S., Fotiadis Z. et al.* Human mesenchymal stem cells with enhanced telomerase activity acquire resistance against oxidative stress-induced genomic damage // *Cytotherapy.* 2017. V. 19. № 7. P. 808–820.
 74. *Morgan W.F., Sowa M.B.* Non-targeted effects induced by ionizing radiation: mechanisms and potential impact on radiation induced health effects // *Cancer Lett.* 2015. V. 356. № 1. P. 17–21.
 75. *Рябченко Н.Н., Демина Э.А.* Радиационно-индуцированная нестабильность генома человека // *Probl. Radiat. Med. Radiobiol.* 2014. № 9. P. 48–58
 76. *Guryev D.V., Osipov A.N., Lizunova E.Y. et al.* Ionizing radiation-induced genomic instability in CHO cells is followed by selection of radioresistant cell clones // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2009. V. 147. № 5. P. 596–598.
 77. *Осипов А.Н., Лизунова Е.Ю., Гурьев Д.В., Воробьёва Н.Ю.* Поврежденность генома и продукция активных форм кислорода в потомках облученных клеток линии CHO-K1 // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2011. Т. 51. № 3. С. 309–314.
 78. *Kim G.J., Fiskum G.M., Morgan W.F.* A role for mitochondrial dysfunction in perpetuating radiation-induced genomic instability // *Cancer Res.* 2006. V. 66. № 21. P. 10377–10383.
 79. *Tseng B.P., Lan M.L., Tran K.K. et al.* Characterizing low dose and dose rate effects in rodent and human neural stem cells exposed to proton and gamma irradiation // *Redox. Biol.* 2013. V. 1. P. 153–162.
 80. *Shimura T., Kunugita N.* Mitochondrial reactive oxygen species-mediated genomic instability in low-dose irradiated human cells through nuclear retention of cyclin D1 // *Cell Cycle.* 2016. V. 15. № 11. P. 1410–1414.
 81. *Mothersill C., Seymour C.B.* Radiation-induced bystander effects implications for cancer // *Nat. Rev. Cancer.* 2004. V. 4. № 2. P. 158–164.
 82. *Zambetti N.A., Ping Z., Chen S. et al.* Mesenchymal Inflammation Drives Genotoxic Stress in Hematopoietic Stem Cells and Predicts Disease Evolution in Human Pre-leukemia // *Cell Stem. Cell.* 2016. V. 19. № 5. P. 613–627.
 83. *Szatmari T., Kis D., Bogdandi E.N. et al.* Extracellular Vesicles Mediate Radiation-Induced Systemic Bystander Signals in the Bone Marrow and Spleen // *Front. Immunol.* 2017. V. 8. P. 347.

84. *Lapidot T., Sirard C., Vormoor J. et al.* A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice // *Nature*. 1994. V. 367. № 6464. P. 645–648.
85. *Sell S., Pierce G.B.* Maturation arrest of stem cell differentiation is a common pathway for the cellular origin of teratocarcinomas and epithelial cancers // *Lab. Invest.* 1994. V. 70. № 1. P. 6–22.
86. *Manda K., Kavanagh J.N., Buttler D. et al.* Low dose effects of ionizing radiation on normal tissue stem cells // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2014. V. 761. P. 6–14.
87. *Christensen R., Alsner J., Brandt Sorensen F. et al.* Transformation of human mesenchymal stem cells in radiation carcinogenesis: long-term effect of ionizing radiation // *Regen Med.* 2008. V. 3. № 6. P. 849–861.
88. *Москалёва Е.Ю., Жорова. Е.С., Сёмочкина Ю.П. и др.* Характеристика опухолей, развившихся у мышей после введения сингенных облученных мезенхимных стволовых клеток костного мозга // *Цитология*. 2017. Т. 59. № 4. С. 271–278.
89. *Москалёва Е.Ю., Сёмочкина Ю.П., Родина А.В. и др.* Влияние облучения на мезенхимальные стволовые клетки костного и головного мозга мыши и их способность индуцировать опухоли // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2017. Т. 57. № 3. С. 245–256.

Mesenchymal Stem Cells: Effects of Low-Dose Ionizing Radiation Exposure

M.V. Pustovalova^{a,b}, A.K. Grekhova^{a,b,c}, and A.N. Osipov^{a,b,#}

^a *Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

^b *Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia*

^c *N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

[#] *E-mail: andreyan.osipov@gmail.com*

Mechanisms of low dose ionizing radiation exposure effects (10–100 mGy) are one of the most discussed and controversial issues of the modern molecular and cellular radiobiology, epidemiology and risk assessment among radiation workers and patients undergoing diagnostic medical procedures. Rapidly advancing methods of regenerative medicine raise a question about the effects of low dose ionizing radiation exposure in stem cells. High proliferation capacity of stem cells may lead to transmission of the accumulated DNA damage and mutations to the differentiated progeny of exposed cells. At the same time, usage of syngeneic and allogeneic mesenchymal stem cells in transplantation for regeneration of damaged tissues makes the study of their possible malignant transformation particularly important. In this review we are trying to provide an overview of the current knowledge about early and late low dose radiation-induced effects on normal stem cells.

Keywords: mesenchymal stem cells, DNA double-strand breaks, proliferation, aging, genome instability, carcinogenesis, ionizing radiation, low doses, delayed effects