

Возможности физико-химической регуляции пула стволовых клеток

Хлусов И.А.

Possibilities of physical-chemical regulation of stem cells' pool

Khlusov I.A.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Хлусов И.А.

Исследовано модулирующее влияние электрических импульсов, видимого света, некоторых микроэлементов в параметрах, приближенных к физиологическим, на жизнедеятельность родоначальных и зрелых клеток системы крови *in vitro* и *in situ*. В костном мозге мышей определялись содержание гранулоцитарных (КОЕ-Г) и фибробластоидных (КОЕ-Ф) колониеобразующих единиц, концентрация колониестимулирующей и колониингибирующей активностей, подсчитывались миелограммы и морфологические признаки апоптоза и некроза миелокариоцитов, изучалось насыщение ионами хрома эритроцитов периферической крови добровольца. Результаты показали, что клеточные эффекты физико-химических воздействий малоспецифичны. Тем не менее в зависимости от плотности энергии и концентрации раздражителя можно осуществлять как позитивное, так и негативное регуляторное влияние на жизнедеятельность кроветворных и стромальных прекурсоров. При этом эффект обусловлен не только прямыми, но и опосредованными через клеточное микроокружение реакциями, регулирующими направленность и интенсивность метаболических внутриклеточных процессов. Предполагается, что одними из клеток-мишеней, способных в зависимости от силы физического раздражителя переключать программу роста кроветворных и стромальных клеток-предшественников костного мозга, являются лимфоциты.

Ключевые слова: прекурсоры гранулоцитов и фибробластов, опухолевые клетки, импульсный красный свет, электрические импульсы, костный мозг, *in vitro*.

Modulating influence of electric impulses, visible light, some microelements is studied in parameters which are near to physiologic ones on life activity of progenitor and mature cells of blood system *in vitro* and *in situ*. Content of granulocyte and fibroblastoid colony-forming units, concentration of colony-stimulating and colony-inhibiting activities, their concentration were determined, myelograms and morphologic signs of myelocariocytes apoptosis and necrosis were scored, saturation by chrom ions of peripheral blood erythrocytes was studied in mice bone marrow. The results showed that cell effects of physical-chemical influences are small specific. Nevertheless, one may perform both positive and negative regulating influence on life activity of stromal precursors in dependence of energy density and stimulus concentration. The effect is due not only by direct but mediated reactions regulating direction and intensity of metabolic intracellular processes. It is suggested that one of target cells capable of change increase program of hemopoietic and stromal cells-progenitors of bone marrow in dependence of physical stimulus strength are lymphocytes.

Key words: precursors of granulocytes and fibroblasts, tumour cells, impulse red light, electrical impulses, bone marrow, *in vitro*.

УДК 616.419

Вещества природного и синтетического происхождения способны оказывать влияние на жизнедеятельность клеток *in vivo* и *in vitro*. Существующий арсенал фармакологических средств предполагает использование их стимулирующего либо ингибирующего влияния на размножение тех или иных клеток [3, 5, 7, 12].

Физические и химические факторы, в частности радиационное и термическое воздействие [6], ультра-

фиолетовое излучение [10], цитостатические препараты [1], обладают в основном негативным эффектом на интенсивность клеточного роста. С другой стороны, известно позитивное влияние некоторых режимов монохроматического света (лазерного или светодиодного) [13] и переменного электромагнитного поля на жизнедеятельность клеток [11]. Однако подобные модуляторы или дозы их воздействия являются экстремальными раздражителями.

Целью исследования явилось комплексное изучение *in vitro* и *in situ* модулирующего влияния электрических импульсов, видимого света, некоторых микроэлементов в параметрах, приближенных к физиологическим, на жизнедеятельность родоначальных и зрелых клеток системы крови, а также опухолевых клеток.

Эксперименты по культивированию клеток *in vitro* проведены на 14 здоровых мышцах-самцах линии СВА/СаЛас массой 18—20 г и 1 мышши СВА/СаЛас с перевиваемой асцитной опухолью Эрлиха, полученных из коллекционного фонда лаборатории экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (г. Томск). Животных умерщвляли эфирным наркозом.

Клетки костного мозга вымывали из бедренной кости средой RPMI-1640 с 5% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС), 280 мг/л L-глутамина, доводили до конечной концентрации $2 \cdot 10^6$ нуклеаров в 1 мл в общем объеме среды 6 мл. В стерильных условиях в клеточную взвесь помещали автономный электростимулятор (АЭС) желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (НИИ полупроводниковых приборов, г. Томск) с напылением ионов хрома или без такового. Варьировали время нахождения АЭС ЖКТ в клеточной взвеси при температуре 37 °С для достижения суммарной плотности энергии электрических импульсов в диапазоне $W = 0,1 \div 3,6$ Дж/см³.

Мини-прибор АЭС ЖКТ выполнен в виде лекарственной капсулы, в которой электроды представляют собой ее изолированные части, а генератор импульсов и источник питания размещены внутри капсулы, генерирующий импульсный ток с длительностью импульсов, равной 5—7 мс, силой тока 9—16 мА и амплитудой напряжения между электродами до 4,5 В.

В другом эксперименте миелокарициты мышшей линии СВА/СаЛас культивировали при температуре 37 °С в течение 3 ч (инкорпоральное облучение) с фотонной таблеткой. В одном из экспериментов аналогичное световое воздействие на клетки проводили фотонной таблеткой, находящейся вне клеточного резервуара (экскорпоральное облучение). Автономный фотостимулятор (АФС, фотонная таблетка) (ОАО «Дюны», г. Томск) представляет собой мини-прибор с напряжением питания 4,5 В, амплитудой импульсов тока 4 мА, длительностью импульса 6 мс, 16 импульсов в пачке, период следования пачек импульсов ра-

вен 3 с, длина волны (655 ± 20) нм (красный диапазон).

Жизнеспособность костномозговых нуклеаров фиксировали при помощи 0,4%-го трипанового синего. Собирали супернатанты миелокарицитов, обработанных электрическими импульсами, путем центрифугирования клеточной взвеси при 500g в течение 10—15 мин. Определяли колониестимулирующую и колониингибирующую активности методом колониеобразования.

Клонирование нефракционированного костного мозга проводили в CO₂-инкубаторе в 96-луночных планшетах в концентрации $2 \cdot 10^5$ /мл живых клеток в полувязкой среде следующего состава: 89% среды RPMI-1640 (ICN), 10% ЭТС (ICN), 40 мг/л гентамицина, 280 мг/л L-глутамина (Sigma), $2,5 \cdot 10^{-5}$ моль 2-меркаптоэтанол (Sigma), 1% метилцеллюлозы (Sigma). В качестве стимулятора роста применяли рекомбинантный Г-КСФ человека (ICN) в концентрации 1 нг/мл. В часть лунок добавляли супернатанты обработанных миелокарицитов в количестве 1/6 от объема культуральной среды (240 мкл).

При помощи инвертированного микроскопа подсчитывали число гранулоцитарных (КОЕ-Г) и фибробластоидных (КОЕ-Ф) колониеобразующих единиц. Содержание способных к росту КОЕ-Ф и КОЕ-Г определяли по числу колоний, выросших в полувязкой культуре через 6 сут культивирования в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С и 100%-й влажности. Под колониями подразумевали клеточные агрегаты, состоящие не менее чем из 50 клеток.

С целью изучения воздействия физических факторов на костный мозг *in situ* бедренные кости 12 мышшей Balb/c культивировали в 6 мл среды RPMI-1640 при температуре 37 °С в течение 3 ч с АЭС ЖКТ, либо с АЭС ЖКТ с напылением хрома, либо с АФС, либо без таковых (контроль, точка 0). Воздействию подвергали контрольные ($n = 12$) и подопытные ($n = 12$) кости от каждого животного. На предметных стеклах делали мазок костного мозга, окрашивали азуром II-эозином по Нохту—Максимову. Морфологические признаки апоптоза и некроза определяли, как описано ранее [2], при подсчете общей (на 400 клеток) и парциальной миелограммы на 500 нуклеаров каждого ростка.

Асцит с числом жизнеспособных клеток $60 \cdot 10^6$ нуклеаров в 1 мл стерильно забирали на 7-й день после перевивки опухоли Эрлиха. Рабочую концентрацию

опухолевых клеток доводили до $2 \cdot 10^6$ жизнеспособных нуклеаров в 1 мл среды RPMI-1640 (общий объем 6 мл), содержащей 20% ЭТС и 280 мг/л L-глутамин, и помещали АЭС ЖКТ с ионами хрома или без таковых. Затем убирали мини-приборы, взвесь живых клеток разливали в конечной концентрации 10^6 клеток в 1 мл в 0,2 мл свежей среды с ЭТС и L-глутамином в 96-луночные планшеты и культивировали при температуре 37 °С, 4% CO₂ и 100%-й влажности в течение 24 ч. Подсчитывали общее количество кариоцитов, а также число живых опухолевых клеток в тесте с 0,4%-м трипановым синим.

Взвесь эритроцитов периферической крови взрослого добровольца в количестве $25 \cdot 10^6$ клеток в 6 мл RPMI-1640 обрабатывали *in vitro* АЭС ЖКТ с напылением хрома в течение 10—120 мин. Удаляли мини-приборы, дважды отмывали взвесь клеток в сбалансированном фосфатном буфере при 500g в течение 10—15 мин. Надосадочную жидкость удаляли, к осадку добавляли 2 мл воды для инъекций. Осмотический гемолиз эритроцитов проводили в течение 15 мин при постоянном помешивании взвеси. Центрифугировали при 500g в течение 10—15 мин, забирали надосадочную жидкость в контейнеры и хранили не более 1 мес при температуре 4 °С. В супернатантах определяли в трех повторах концентрацию ионизированного (биологически активного) хрома методом амперометрического титрования.

Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи *t*-критерия Стьюдента; *T*-критерия Вилкоксона (p_T) и *U*-критерия Манна—Уитни (p_U). Определяли средние величины X и ошибку среднего m .

При воздействии электромагнитных импульсов на биологические объекты наиболее важными физическими параметрами являются плотность мощности (интенсивность) I , Вт/см², плотность энергии W , Дж/см², длина волны, режим и длительность воздействия [9]. Проведенные исследования показали, что электрические импульсы способны оказывать как позитивное, так и негативное влияние на рост клеток *in vitro*. При этом направленность эффекта зависит от времени воздействия на взвесь клеток костного мозга, определяющего суммарную плотность энергии (табл. 1).

Таблица 1
Влияние суммарной плотности энергии электрических импульсов на количество КОЕ-Г и КОЕ-Ф в культуре, % от контроля, точка 0, X

Показатель	Плотность энергии, Дж/см ³							
	0	0,1	0,2	0,4	0,6	1,2	2,4	3,6
КОЕ-Г ($n = 16$)	100	655*	807*	1010*	706	2116*	100	15*
КОЕ-Ф ($n = 16$)	100	1198*	1928*	1630*	997*	5585*	400	0*

Примечание. n — число просчитанных лунок.

* Достоверные ($p < 0,05$) различия с контролем согласно *U*-критерию Вилкоксона—Манна—Уитни.

Так, достоверное увеличение числа КОЕ-Г в культуре цельного костного мозга наблюдалось в диапазоне W электроимпульсного воздействия 0,1—1,2 Дж/см³. Концентрация прекурсоров увеличивалась более чем в 6—21 раз. Дальнейшее воздействие на миелокарициты в жидкой среде приводило к постепенному падению их колониеобразующей активности, фиксируемой по снижению выхода КОЕ-Г в культуре. При плотности энергии электрических импульсов порядка 3,6 Дж/см³ количество гранулоцитарных прекурсоров составляло только 15% ($p < 0,05$) от контроля (табл. 1).

Во многом однотипное влияние оказывали электрические импульсы на выживаемость (способность формировать колонии-клоны одной клетки) КОЕ-Ф (табл. 1): позитивное в интервале $W = 0,1 \div 1,2$ Дж/см³ жидкой культуры миелокарицитов и негативное (до полной ингибиции роста клеток *in vitro*) в дозе 3,6 Дж/см³.

Помимо прямого влияния возможен опосредованный эффект электрических импульсов на клеточный цикл родоначальных клеток, связанный с регуляцией синтетической функции миелокарицитов. Удалось установить, что супернатанты костномозговых клеток, обработанных в жидкой среде в интервале $W = 0,2 \div 0,4$ Дж/см³, активировали гранулоцитарное колониеобразование в метилцеллюлозной культуре (рис. 1).

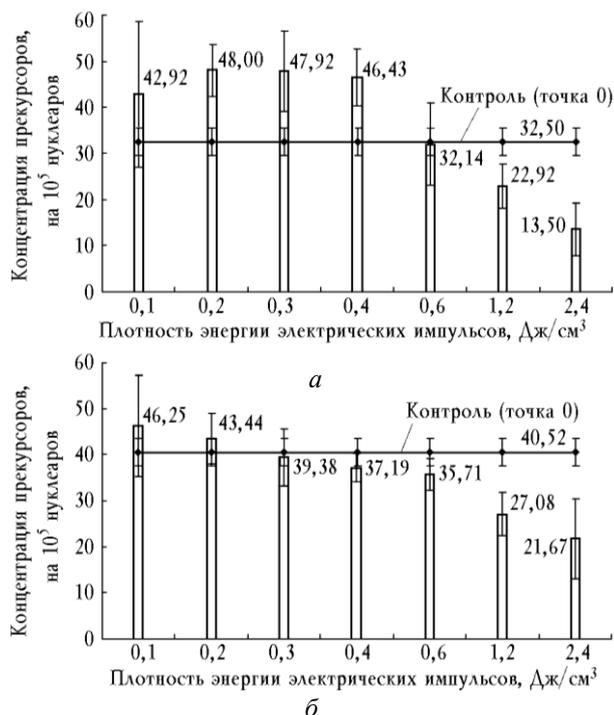


Рис. 1. Влияние супернатантов, полученных при электроимпульсной стимуляции взвеси нефракционированных миелокарицитов, на рост гранулоцитарных (а) и фибробластоидных (б) прекурсоров в культуре

Дальнейшее увеличение дозы электрической энергии приводило к появлению растворимых факторов, подавляющих рост КОЕ-Г до статистических различий с исходным значением (точка 0). При этом электрические импульсы с плотностью энергии 1,2 Дж/см³ стимулировали рост гранулоцитарных прекурсоров и одновременно способствовали продукции колониеингибирующей активности (см. табл. 1, рис. 1), проявляющей свое действие даже в присутствии рекомбинантного

Г-КСФ. В отношении роста КОЕ-Ф супернатанты проявляли только супрессирующую компоненту при $W > 0,4$ Дж/см³ на фоне прямой электростимуляции пролиферации клеток-предшественников фибробластов (см. табл. 1, рис. 1).

Следует отметить, что в бесклеточной среде при $W = 2,4$ Дж/см³ продукты электролиза не влияли на концентрацию КОЕ-Г и КОЕ-Ф. Выход прекурсоров в культуре не отличался от исходного (точка 0) и статистически значимо превышал соответствующие значения, полученные при добавлении клеточных супернатантов (на 160 и 67%, $p < 0,05$).

Представленные результаты позволяют предположить, что регуляторное действие электрических импульсов опосредовано через секреторную активность клеток гемопоэзиндуцирующего микроокружения (ГИМ), определяющих спектр стимулирующих и ингибирующих цитокинов в зависимости от энергии воздействующего фактора.

В процессе электролиза из стальной оболочки электродов выделяются микроэлементы, в частности хром, которые могут оказывать выраженное воздействие на клетки. Для проверки эффекта, обусловленного ионной составляющей электрического воздействия, были использованы АЭС ЖКТ с напылением хрома в дозе, равной суточной потребности человека. Комбинированное воздействие на миелокарициты электрического поля ($W = 3,6$ Дж/см³) и катионов хрома полностью подавляло рост КОЕ-Г и КОЕ-Ф. Более того, добавление ионной (химической) компоненты приводило в отличие от чистого электрического (физического) фактора к эффективному угнетению жизнедеятельности клеток асцитной опухоли Эрлиха в жидкой культуре *in vitro* (табл. 2).

Тест с трипановым синим показывает связанное с некрозом увеличение проницаемости наружной цитоплазматической мембраны. Действительно, обработка *in vitro* взвеси эритроцитов периферической крови добровольца с помощью АЭС ЖКТ с напылением хрома продемонстрировала дозозависимое (в интервале $W = 1,2 \div 2,4$ Дж/см³) 6—16-кратное возрастание внутриклеточной концентрации катиона (рис. 2). Подобный эффект может иметь фатальные последствия для функционирования нуклеиновых кислот и металлопротеидов.

Таблица 2

Число жизнеспособных клеток в асцитной опухоли Эрлиха *in vitro* через 24 ч после воздействия на клеточную взвесь электрическими импульсами и ионами хрома, $X \pm m$

Вид воздействия	Плотность энергии, Дж/см ³		
	0	1,2	3,6
Электрические импульсы	86,71 ± 1,79 (n = 11)	93,36 ± 0,88*	93,63 ± 0,58*
Электрические импульсы + ионы хрома	86,71 ± 1,79 (n = 11)	0,73 ± 0,49*#	0,20 ± 0,19*#

Примечание. n — число наблюдений.

* Статистически значимые ($p < 0,05$) различия с контролем (точка 0).

Статистически значимые ($p < 0,05$) различия с показателем для электрических импульсов согласно *t*-критерию Стьюдента.

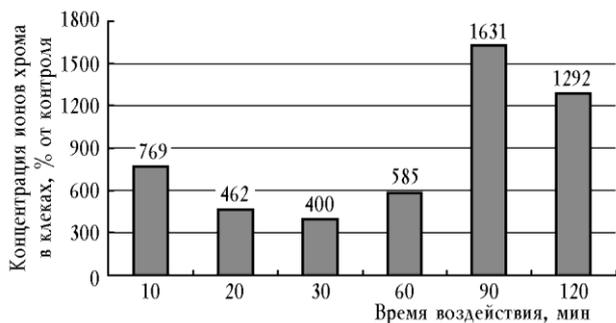


Рис. 2. Уровень ионов хрома в эритроцитах после воздействия *in vitro* автономным электростимулятором желудочно-кишечного тракта с напылением микроэлемента. В каждой точке представлены средние значения трех измерений

Экстремальным для КОЕ-Г и КОЕ-Ф фактором оказался также низкоэнергетический монохроматический свет видимого спектра. Экспозиция красного света с взвесью миелокариоцитов подавляла рост 80—90% родоначальных клеток (табл. 3, рис. 3) в благоприятной питательной среде даже в присутствии Г-КСФ, являющегося мощным ингибитором апоптоза [7]. Перерасчет физических параметров по Б.В. Тестову [8] показал, что за 3 ч инкорпорального воздействия красного света на жидкую культуру плотность энергии составила около 1 Дж/см³, доза, поглощенная каждым миелокариоцитом, варьировала в пределах 0,5 мГр.

Таблица 3

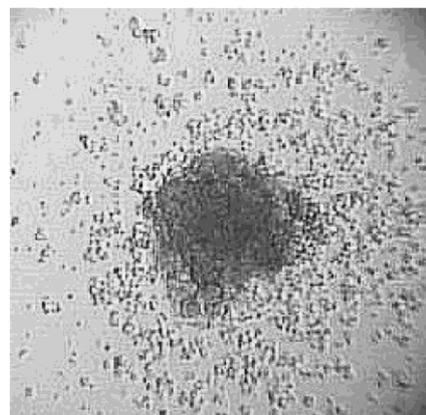
Концентрация родоначальных клеток (на 10⁵ нуклеаров) в 6-дневной культуре после обработки взвеси миелокариоцитов красным импульсным светом, X

Показатель	Контроль (точка 0)	Инкорпоральное облучение	Экскорпоральное облучение
КОЕ-Г	11,88 (n = 6)	1,25 * (n = 10)	4,38*# (n = 12)
КОЕ-Ф	35,83 (n = 6)	8,00 * (n = 10)	21,46*# (n = 12)

Примечание. n — число просчитанных лунок.

* — достоверные различия с контролем;

— достоверные различия с инкорпоральным облучением согласно U-критерию Вилкоксона—Манна—Уитни.



а



б

Рис. 3. Состояние гранулоцитарных колониеобразующих единиц до воздействия (а) и после облучения взвеси миелокариоцитов (б) красным импульсным светом. Ув. 100

Известно, что при удалении источника света от клеточной взвеси (экскорпоральное облучение) его подавляющее действие на рост и размножение родоначальных клеток нивелируется (табл. 3) вследствие снижения мощности фотонного воздействия, связанного, в частности, с усилением рассеивания и отражения света [9].

Вызывает интерес тот факт, что электрические импульсы с плотностью энергии, сравнимой с таковой для красного света, напротив, стимулировали выход КОЕ-Г и КОЕ-Ф. Скорее всего, данное явление обусловлено существованием внутриклеточных акцепторов света (хромофоров), которые способствуют усилению корпускулярно-волнового воздействия за счет активации фотохимических процессов.

Энергии красного света достаточно только для обратимого электронного возбуждения молекул, поэтому импульсный низкоэнергетический режим

облучения может вызывать резонанс клеточных структур [9], приводящий к активации программы суицида клетки в процессе ее адаптивного ответа на стрессор.

В пользу деликатности применяемых в работе раздражителей свидетельствовало отсутствие тяжелых (некротических) изменений в клетках, таких как вакуолизация ядра и цитоплазмы, цитолизис. В тесте с трипановым синим процент погибших нуклеаров не зависел от дозы воздействия, статистически значимо не отличался от контроля (точка 0) и составлял 1,5—13,0% для электрического воздействия и 9—13% — для красного света.

Фоторецепция красного света внутриклеточными молекулами кислорода [4] лежит в основе гиперпродукции активных форм кислорода и перекисей, являющихся медиаторами клеточной смерти [14, 15].

В этом плане интересны полученные данные, согласно которым воздействие *in vitro* красного импульсного света на бедренную кость с плотностью энергии порядка 1 Дж/см³ сопровождалось статистически значимым p_T увеличением морфологических индексов апоптоза и некроза во всех ростках костного мозга в основном за счет повышения выхода апоптотических тел, которые считаются морфологическими маркерами апоптоза [15].

По чувствительности к красному импульсному свету миелокарициты располагались в следующем порядке: эритрокарициты → лимфоциты → зрелые гранулоциты → моноциты/макрофаги → незрелые гранулоциты. При этом количество эритроидных клеток в облученном костном мозге падало до 27% ($p_U < 0,05$) от контрольного уровня.

Считается, что метаболические пути физиологической активации, апоптоза и некроза клеток во многом аналогичны. Судьба клеток определяется силой эндогенного и (или) экзогенного стимула, состоянием самих мишеней и факторов микроокружения [15].

Результаты показали, что к электрическим импульсам ($W = 3,6$ Дж/см³) миелокарициты чувствительны в следующем порядке: лимфоидные клетки → незрелые гранулоциты → моноциты/макрофаги → зрелые гранулоциты → эритрокарициты. Так, морфологические признаки некроза и апоптоза лимфоидных клеток в костном мозге, подвергнутом *in situ* фи-

зическому воздействию, возрастали более чем в 2—3 раза ($p_U < 0,05$).

Воздействие на миелокарициты электрического поля в комбинации с катионами хрома резко усиливало некротические процессы во всех ростках костного мозга ($p_T < 0,05$ по сравнению с контролем), прежде всего в гранулоцитарном, лимфоидном и эритроидном, по-видимому, вследствие повреждения цитоплазматических мембран.

При взаимодействии с клетками физико-химические факторы определенной силы и длительности воздействия способны вызывать обратимые и необратимые изменения, активирующие или тормозящие клеточное деление, реализующие программу гибели клеток путем апоптоза и некроза.

Клеточные эффекты физико-химических воздействий в основном малоспецифичны. Тем не менее следует отметить определенные моменты, которые связаны с природой экстремального фактора, видом и состоянием клетки. При этом влияние на пул стволовых клеток может протекать за счет прямых (физико-химических, биохимических и биофизических) и опосредованных через клеточное микроокружение реакций, регулирующих направленность и интенсивность метаболических внутриклеточных процессов. По крайней мере, лимфоциты можно рассматривать в качестве кандидата на клетку-мишень ГИМ, способную в зависимости от силы физического раздражителя переключать программу роста кроветворных и стромальных клеток-предшественников костного мозга.

Литература

1. Гершанович М.Л. Осложнения при химио- и гормонотерапии злокачественных опухолей. М.: Медицина, 1982. 224 с.
2. Гольдберг Е.Д., Карпова Г.В., Тимина Е.А., Хлусов И.А. Индуцированная гибель клеток в развитии гипоплазии кроветворной ткани после цитостатического воздействия // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1999. № 1. С. 39—42.
3. Закономерности структурной организации систем жизнеобеспечения в норме и при развитии патологического процесса / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.В. Удут и др. Томск: Изд-во ТГУ, 1996. 283 с.
4. Захаров С.Д., Скопионов С.А., Чудновский В.М. и др. Первичные механизмы неспецифического действия низкоинтенсивного лазерного излучения на эритроциты с участием молекулярного кислорода // Изв. АН СССР. Сер. Физическая. 1990. Т. 54. № 8. С. 1629—1635.
5. Иващенко Ю.Д., Быкорез А.И. Полипептидные факторы роста и канцерогенез. Киев: Наукова думка, 1990. 192 с.
6. Переверзев А.Е. Кроветворные колониеобразующие клетки и физические стресс-факторы. Л.: Наука, 1986. 172 с.

7. Скобин В.Б., Морцакова Е.Ф., Павлов А.Д. Влияние гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора на эффективность химиотерапевтических препаратов при острой миелоидной лейкемии: лабораторные и клинические исследования // Гематология и трансфузиология. 1997. Т. 42. № 2. С. 36—40.
8. Тестов Б.В. Биологическое действие электромагнитного излучения различной энергии // Проблемы радиэкологии и пограничных дисциплин. Заречный, 1999. Вып. 2. С. 81—87.
9. Тучин В.В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1998. 384 с.
10. Cotter T.G., Lennon S.V., Glynn J.M., Green D.R. Microfilament-disrupting agents prevent the formation of apoptotic bodies in tumor cells undergoing apoptosis // Cancer Research. 1992. V. 52. P. 997—1005.
11. De Mattei M., Caruso A., Traina G.C. et al. Correlation between pulsed electromagnetic fields exposure time and cell proliferation increase in human osteosarcoma cell lines and human normal osteoblast cells in vitro // Bioelectromagnetics. 1999. V. 20. № 3. P. 177—182.
12. Goldberg E.D., Dygai A.M., Agafonov V.I. et al. Principles of designing natural stimulators of hemopoiesis // Experimental and Clinical Pharmacology. 1997. V. 1. № 1. P. 1—6.
13. Karu T. Photobiology of low-power laser effects // Health Physics. 1989. V. 56. P. 691—704.
14. Lenaz G. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing // Biochimica et Biophysica Acta. 1998. V. 1366. P. 53—67.
15. Samali A., Gorman A.M., Cotter T.G. Apoptosis — the story so far... // Experientia. 1996. V. 52. P. 933—941.

Поступила в редакцию 02.05.2006 г.

Утверждена к печати 20.11.2006 г.