Экспериментальное лечение аллогенными мультипотентными мезенхимными стромальными клетками эмфиземы легких у крыс

А.В. Аверьянов [1], А.Г. Коноплянников [2], А.Л. Черняев [3], В.Н. Петров [2], О.А. Коноплянникова [2], Е.В. Агаева [2], А.Ф. Цыб [2], О.П. Кузовлев [1], А.С. Брюховецкий [4], Н.С. Кулагина [1], А.Е. Трусов [3]

[1] Федеральный научно–клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва

[2] Медицинский радиологический научный центр Минздравсоцразвития России, Обнинск

[3] НИИ пульмонологии ФМБА России, Москва

[4] ЗАО «Нейровита», Москва

Experimental treatment with allogeneic multipotent mesenchymal stromal cells pulmonary emphysema in rats

A.V. Averyanov [1], A.G. Konoplyannikov [2], A.L. Chernyaev [3], V.N. Petrov [2], O.A. Konoplyannikova [2], E.V. Agaeva [2], A.F. Zib, O.P. Kuzovlev [1], A.S. Bruhovetsky [4], N.S. Kulagina [1], A.E. Trusov [3]

[1] Federal Research Clinical Center of tne specialized types of health care and medical technologies FMBA of Russia, Moscow

[2] Medical Radiological Research Center, Obninsk

[3] Pulmonology Research Institute, Moscow

[4] JSC «Neurovita», Moscow

Цель исследования: оценить морфологические и морфометрические изменения ткани легких и активность перитонеальных макрофагов после трансплантации аллогенных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) в острой эластазной модели эмфиземы легких (ЭЛ) у крыс.

Материал и методы: 40 крыс линии Wistar в возрасте 3-х мес. были рандомизированно разделены на 4 равные группы. Животным 1 группы интратрахеально вводилось 0,4 мл 0,9% NaCl, остальные (2–4 группа) получили эндотрахеально 20 Ед свиной панкреатической эластазы в 0,4 мл 0,9% NaCl. На следующий день (3 группа) и на 7-й день эксперимента (4 группа) крысы получили однократную в/в инъекцию культуры ММСК в количестве 2×10^6 клеток, суспендированных в 0,5 мл физиологического раствора. Крысы 2-й группы использовались в качестве контроля эмфиземы. Перед выведением из эксперимента на 21-й день крысы подвергались перитонеальному лаважу с анализом хемилюминесцентной активности перитонеальных макрофагов (ПМ) в лаважной жидкости.

Результаты. У животных 2–4 групп выявлено развитие ЭЛ разной степени выраженности. Ширина альвеолярных ходов в группе 2 увеличилась на 231% по отношению к контролю. При введении ММСК через сутки после эластазы ширина альвеолярных ходов уменьшалась в среднем на 50,3% по сравнению с контролем. У животных, которым ММСК вводили на 7-е сут. экперимента, этот показатель снижался более значительно — на 64,5%, но был выше на 40,7% по сравнению с первой контрольной группой. Другой количественный показатель выраженности ЭЛ — альвеолярный индекс (АИ) — достоверно возрастал на 149% в группе 2. При введении ММСК на 1-е и 7-е сутки эксперимента АИ уменьшался на 163,4 и 237% соответственно. Индекс пиковой хемилюминисцентной активности ПМ (Мв/106 клеток) составил 28,8+1,1 (1 группа), 57,3+1,3 (2 группа), 35,8+1,6 (3 группа), 31,9+1,9 (4 группа).

Выводы. Исследование подтвердило возможность восстановления ткани легких после системной (в/в) трансплантации ММСК в острой модели ЭЛ у крыс.

Ключевые слова: эмфизема легких, мультипотентные мезенхимные стромальные клетки, системная трансплантация, крысы.

The aim of the study was to asses morphologic and morphometric lung tissue changes and peritoneal macrophages activity (MA) after allogeneic multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) systemic transplantation in acute elastase model of pulmonary emphysema(PE) in rats.

Methods. Forty 3-months old Wistar rats were randomized into 4 groups. Control group (1 group) was injected intratracheally 0,4 ml of normal saline, other animals (2–4 groups) received one intratracheal injection of 20 units (U) porcine pancreatic elastase in 0,4 ml of saline. Next day (3 group) and 7 day (4 group) rats were intravenously injected 2×10^6 autologous MMSC in 0,5 ml of saline. 2 group was used as emphysema control. Before euthanizing at the 21st day rats were undergone peritoneal lavage with analysis of hemi-luminescent macrophages activity in the obtained fluid.

Results. The lungs of 2–4 groups had various degrees of PE. The imean linear intercept in group 2 experimental emphysema increased by 231% versus the control group. The transplantation of MSCs in a day after elastase decreased mean linear intercept by an average of 50.3% compared to the control of experimental emphysema. In animals MMSC injected at the 7 th day of study, this sizes decreased more greater — by 64,5%, but was higher by 40.7% compared to the first control group. Another quantitative measure of PE alveolar index was significantly increased by 149% in group 2. The transplantation of MMSC at 1-st and 7-th day of experiment leaded to alveolar index decreasing, respectively on 163.4 and 237% . The peak Index of hemi-luminescent macrophages activity (Mv/10^6 cells) has made 28,8+1,1 (1 group), 57,3+1,3 (2 group), 35,8+1,6 (3 group), 31,9+1,9 (4 group).

Conclusions. Our study confirmed the possibility of regenerative lung tissue effect of autologous MMSC intravenous injected in experimental rat models of PE

Key words: pulmonary emphysema, multipotent mesenchymal stromal cells, systemic transplantation, rats.

e-mail: averyanovav@mail.ru

Эмфизема легких (ЭЛ) – один из наиболее частых клинико-морфологических синдромов в патологии органов дыхания. По данным мета-анализа R.J. Halbert с соавт. (2006) ЭЛ встречается у взрослого населения с частотой 0,5–5,7% [1]. Большой проблемой является не только высокая заболеваемость ЭЛ, обусловленная, прежде всего, распространенностью табакокурения, но и фактическое отсутствие медицинских инструментов влияния на прогрессирование процесса. Согласно общепринятому определению, ЭЛ – необратимое увеличение воздушного пространства дистальнее терминальных бронхиол, сопровождающееся деструкцией стенок ацинуса, без сопутствующего их фиброза [2]. Однако это устоявшееся представление о необратимости эмфизематозных изменений ткани легких было подвергнуто сомнению после ряда экспериментов, доказывающих возможность восстановления поврежденных структур экстрацеллюлярного матрикса легочной паренхимы под влиянием ретиноевой кислоты [3, 4]. Было также показано, что в сохранившихся элементах ткани легких идет активный синтез эластина и коллагена [5]. В нашем исследовании у больных, оперированных по поводу тяжелой эмфиземы, обнаружена гиперэкспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в паренхиме легких, что свидетельствовало в пользу активного ангиогенеза [6]. Одна из гипотез патогенеза ЭЛ предполагает, что в его основе лежит нарушение баланса повреждения-регенерации альвеолярных структур.

Естественный интерес к проблеме регенерации в легких вызывают активно развивающиеся клеточные технологии. Тем не менее, до последнего времени опубликованы результаты единичных исследований, оценивающих возможные эффекты различных видов стволовых/прогениторных клеток на патологический процесс в экспериментальных моделях ЭЛ. В 2008 г. G. Zhen с соавт. показали, что введение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) крысам с папаин-индуцированной эмфиземой приводит к миграции их в легкие с последующей дифференцировкой в альвеолоциты II типа, ингибирует процессы апоптоза и предотвращает развитие ЭЛ [7]. K. Schweitzer с соавт. (2011) доказали снижение активности воспаления в дыхательных путях и уменьшение числа погибших альвеолоцитов и эндотелиоцитов после трансплантации ММСК жировой ткани мышам с эмфиземой, вызванной хронической экспозицией табачного дыма или блокадой рецепторов VEGF [8].

Однако H. Kubo (2010) не подтверждает регенеративный эффект экзогенных ММСК костного мозга в экспериментальной модели ЭЛ у мышей [9]. Таким образом, результаты известных исследований эффектов ММСК на разных животных моделях ЭЛ недостаточны и противоречивы, а их зависимость от сроков трансплантации ранее не изучалась. Имея предшествующий опыт экспериментов с ММСК в животных моделях при патологии кишечника, сердца, печени, выполненных в Медицинском радиологическом научном центре Минздравсоцразвития России [10], мы воспроизвели острую модель эмфиземы легких у крыс с последующей трансплантацией ММСК и морфологическим анализом полученного материала.

Цель исследования заключалась в оценке эффектов трансплантации аллогенных ММСК в разные сроки на ткань легких у крыс с эмфиземой, индуцированной интратрахеальным введением панкреатической эластазы.

Исследование проводилось в соответствии с Приложением №8. (Правила гуманного обращения с лабораторными животными) к Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) от 6 апреля 1973 г. № 1045-73.

Материал и методы

40 крыс самок линии Wistar в возрасте 3-х месяцев, массой 180–200 г, были рандомизированы в 2 группы: животным 1 группы (10 крыс) интратрахеально вводили 0,4 мл 0,9% раствора NaCl; остальные животные (30 крыс) получили эндотрахеально 20 ЕД свиной панкреатической эластазы (Sigma, США) в 0,4 мл 0,9% NaCl. После инстилляции крыс поворачивали в разные стороны в течение 1 мин для равномерного распределения жидкости в дыхательных путях. Для обездвиживания животных во время интратрахеальных инъекций предварительно внутрибрюшинно вводился раствор нембутала в дозе 40 мг/кг массы тела.

Крысы с моделированной эмфиземой случайным образом были распределены на 3 группы по 10 животных в каждой. Одна группа (группа 2) использована в качестве контроля эмфиземы. Другой группе (группа 3) через 1 сут. после инстилляции эластазы в хвостовую вену вводили по 2×10^6 суспензии аллогенных ММСК, содержащихся в 0,5 мл физиологического раствора. Животные 4 группы получили ту же дозу ММСК через 7 сут. после введения эластазы.

Культура ММСК (пассаж 5) была выращена из костного мозга крыс линии Вистар, самок по модифицированной методике [10]. У крыс-доноров клетки костного мозга для посева в культуру получали из бедренной кости после введения им для эвтаназии раствора нембутала (70 мг/кг). Полученные в строго стерильных условиях примерно 10^7 костномозговых клеток помещали в пробирки с гепарином (100 ЕД/мл пунктата). После отстаивания эритроцитов в течение 1–2 ч при комнатой температуре супернатант удаляли пастеровской пипеткой, выделенные клетки отмывали в среде 199 (Sigma, США), центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 мин, осадок ресуспендировали в ростовой среде. В качестве ростовой среды служила среда RPMI-1640 (Sigma, США), содержащая пенициллин (100 ЕД/мл), амфотерицин (100 нг/мл), L-глютамин 2 мМ, 20% эмбриональной телячей сыворотки. Культивирование проводилось в пластиковых флаконах Карреля (Sigma, США) с площадью дна 25 см^2, в которые вносили 5×10^6–10^7 клеток костного мозга в 8 мл ростовой среды. Флаконы продували газовой смесью, содержащей 5% углекислого газа и 95% воздуха, и помещали их в обычный термостат при 37°С. Продувание флаконов такой газовой смесью проводили каждый раз, когда меняли среду или пересевали клетки в новые культуральные флаконы. При достижении сливного (конфлюентного) монослоя клетки пересевали с использованием 0,25% раствора трипсина (Sigma, США) в новые флаконы вначале с той же площадью дна (25 см^2), а впоследствии при нарастании клеточной массы – в большие культуральные флаконы с площадью дна 175 см^2. Такой метод позволял к концу 5–6 нед. добиться получения культуры ММСК в количестве (1–2)×10^8 клеток, достаточном для трансплантации в организм крыс-реципиентов. При изучении методом проточной цитофлюорометрии специфических маркеров полученных культур ММСК было показано, что они относятся к популяции $CD10^{low}/CD34^{-}/CD45^{-}/CD90^{+}/CD105^{+}$ клеток, что соответствует дифференциальным критериям ММСК. Это заключение было подтверждено способностью полученной культуры клеток при изменении условий культивирования и использовании соответствующих индукторов к дифференцировке в четырех исследованным в нашей работе направлениях – в остеоциты, хондроциты, адипоциты и кардиомиоциты (в последнем случае при применении деметилирующего агента – 5-азацитидина). Крыс выводили из эксперимента на 21-й день внутрибрюшинным введением нембутала в дозе 70 мг/кг веса. При достижении наркотизации проводили перитонеальный лаваж путем промывания брюшной полости 5 мл забуференного физиологического раствора (ЗФР, рН 7,4). Модифицирующие эффекты ММСК на уровень зимозан-индуцируемой продукции активных форм кислорода (АФК) перитонеальными макрофагами (ПМ) оценивали в тесте люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ) [11] Пул ПМ выделяли на градиенте Histopaque 1077/1119 (Sigma, США). Для определения продукции АФК в кюветы люминометра «LKB-Wallac 1251» вносили по 10^6 выделенных ПМ в 600 мкл ЗФР, содержащей 10^{-4} М люминола (5-amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione, Serva). Затем в термостатируемую при 37° С кювету в кюветодержателе люминометра автоматически по специальной программе «LKB-Wallac 1254-124 Phagocytosys Program» добавляли суспензию опсонизированного зимозана («Serva» до конечной концентрации 1,25 мг/мл). Регистрация зимозан-индуцированной ХЛ-активности в миллиВольтах/10^6 клеток продолжалась в течение 30 мин через каждые 2–3 мин. Данные представляли как средние величины показаний пика ХЛ-активности макрофагов от 12 параллельных измерений.

После получения материала для определения ХЛ активности макрофагов для фиксации легких интратрахеально через катетер вводили фиксатор Буэна под давлением 12 см водного столба до полного расправления легких, заполнявших всю плевральную полость. После этого перевязывали трахею, извлекали комплекс легкие-сердце из плевральной полости и помещали его в жидкость Буэна, в 5-кратном размере превышающую объем легких, на трое суток. Затем из каждого легкого вырезали пластины толщиной 0,4 см перпендикулярно к воротам легкого через все отделы легкого. Полученные срезы обезвоживали в восходящих по крепости спиртах, заливали в парафин и приготавливали срезы толщиной 0,4–0,5 мкм по общепринятой методике. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. С помощью объект-микрометра проводили измерение ширины альвеолярных ходов между замыкательными пластинками входа в альвеолы, ширину и глубину альвеол, открывающихся в альвеолярные ходы. Все измерения проводили строго перпендикулярно к продольной оси альвеолярных ходов. Вычисляли также соотношение ширины к глубине альвеол (альвеолярный индекс), характеризующий степень выраженности ЭЛ [12].

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи пакета прикладных программ Statistica for Windows StatSoft Inc. Версия 6.0. Данные таблиц представлены как выборочное среднее ± стандартное отклонение. Достоверность различий оцениваемых показателей между исследуемыми группами вычислялась методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

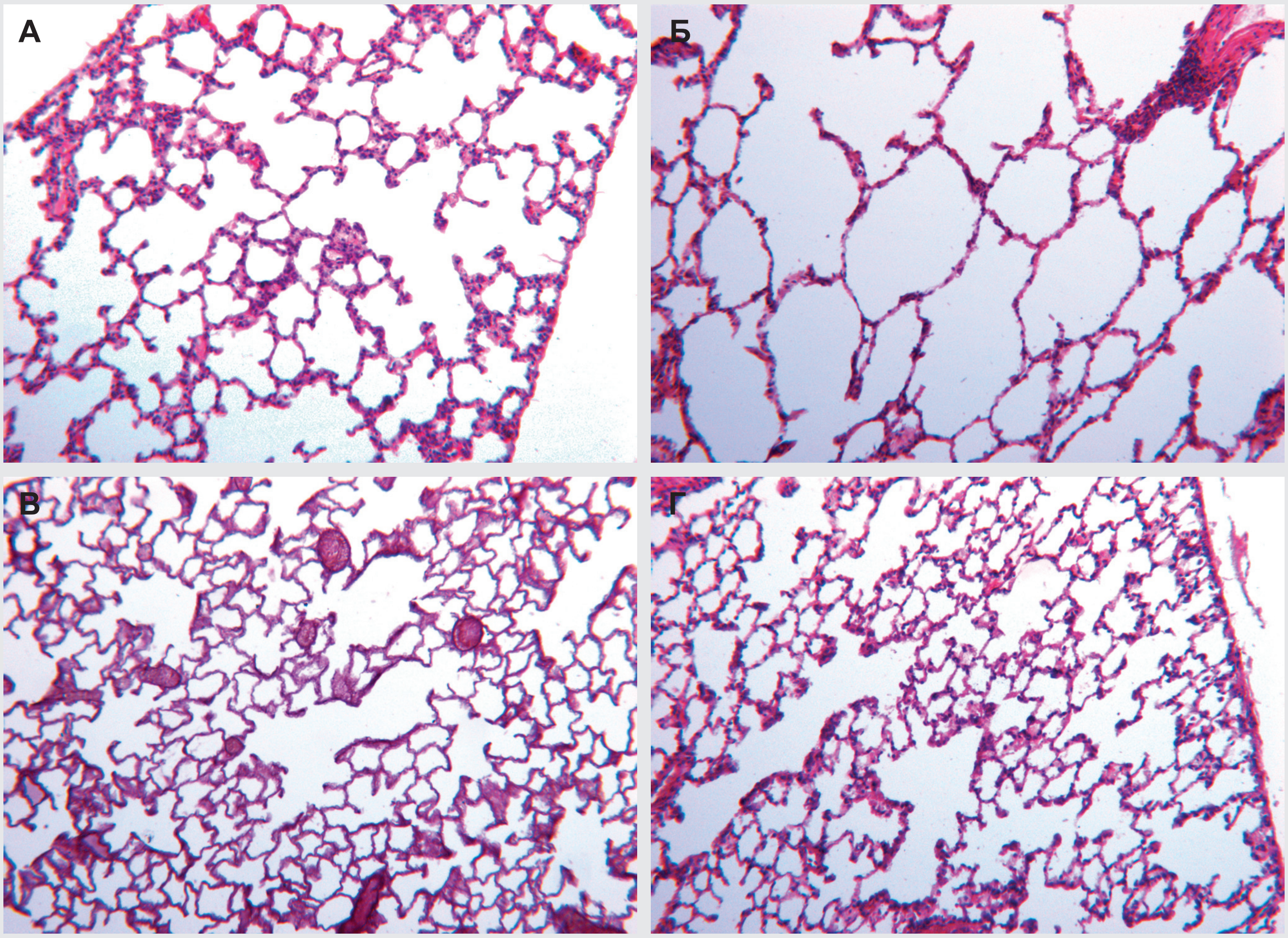
Результаты

В течение эксперимента в группах 2–4 погибли 11 животных: в группе 2 осталось 5; в группе 3 – 8, группе 4 – 6 крыс. Большинство лабораторных животных погибло в первые двое суток после инстилляции эластазы. Причиной смерти во всех случаях было острое повреждение легких. В расчеты настоящего исследования включены выжившие крысы. Основные результаты морфометрического анализа альвеолярной ткани в разных группах животных представлены в табл. 1.

Таблица 1. **Морфометрические характеристики ацинуса в контрольной и экспериментальных группах (n – количество исследованных кусочков легких)**

Группы	Ширина альвеолярного хода (мкм)	Альвеолярный индекс (отношение ширины к глубине альвеол)
Группа 1 (контроль)	(n = 65) 43,2±2,0	(n = 59) 0,78±0,04
Группа 2 (эмфизема контроль)	(n = 76) 100,0±2,0	(n = 73) 1,16±0,04
Группа 3	(n = 60) 66,5±3,8	(n = 57) 0,71±0,04
Группа 4	(n = 38) 60,8±4,3	(n = 41) 0,49±0,06

Как видно из табл. 1, ширина альвеолярных ходов в группе 2 экспериментальной эмфиземы увеличивалась в среднем на 231% по отношению контрольной группе (рис. А, Б), что свидетельствовало об успешном моделировании ЭЛ. При введении ММСК на первые сутки после панкреатической эластазы ширина альвеолярных ходов уменьшалась в среднем на 50,3% (до 66,5 мкм) по сравнению с контрольной группой экспериментальной эмфиземы (рис. В). У животных, которым ММСК вводили на 7 сутки развития эмфиземы, этот показатель снижался в большей степени – на 64,5%, но был выше на 40,7% в сравнении со здоровыми животными группы 1 (рис. Г). Другой количественный показатель выраженности ЭЛ – альвеолярный индекс (АИ) – достоверно возрастал на 149% в группе 2 по отношению к контролю. При введении ММСК на 1-е и 7-е сут. после эластазы АИ достоверно уменьшался на 63,3% и на 236% соответственно по отношению к значению данного показателя в группе контрольной ЭЛ.



Ткань легких: А – контрольная группа (группа 1); Б – расширенные альвеолярные ходы при эмфиземе (группа 2); В – 21-е сут. после введения ММСК на 1-х сут. развития эмфиземы легких (группа 3); Г – 21-е сут. после введения ММСК на 7-е сут. развития эмфиземы легких (группа 4). Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.: ×100

Исследуя показатели хемилюминесцентной активности ПМ мы получили данные, в целом, отражающие морфологические изменения в экспериментальных группах (табл. 2). Высший пик ХЛ-активности ПМ пришелся на животных группы 2 ($57,3\pm1,3$ мВ/10^6 клеток), что практически в 2 раза выше, чем в группе здорового контроля. В группах лечения ММСК показатель ХЛ-активности ПМ снижался в среднем на 60% (группа 3) и 79,6% (группа 4), но не достигал уровня крыс без эмфиземы.

Таблица 2. **Пиковые значения хемилюминесцентной активности перитонеальных макрофагов в контрольной и экспериментальных группах**

Группы	Средние величины показаний пика ХЛ-активности макрофагов (миллиВольт/106 клеток)
Группа 1	28,8±1,1*
Группа 2	57,3±1,3
Группа 3	35,8±1,6*
Группа 4	31,9±1,9*

Примечание: * – $p < 0,001$ в сравнении с группой 2 (контрольная группа ЭЛ).

Обсуждение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о положительных морфологических и иммунологических эффектах трансплантации ММСК в острой эластазной модели ЭЛ. По-видимому, ММСК оказали сдерживающее влияние на развитие ЭЛ после эластазного повреждения. Несмотря на то, что видимые морфологические изменения находят обычно к концу 2-й нед. после введения эластазы в нижние дыхательные пути, биохимические процессы деградации экстрацеллюлярного матрикса паренхимы легких наблюдаются уже в первые часы после эндотрахеальных инъекций эластазы [13]. Гибель альвеолоцитов и эндотелиоцитов, снижение содержания эластина, коллагена и ламинина в альвеолярных стенках имеет место с первого дня эластазного повреждения [13, 14]

В нашем исследовании более выраженный регенеративный эффект наблюдался в группе, получившей ММСК на 7-й день эксперимента (группа 4). Такой факт требует объяснения, поскольку, как правило, раннее вмешательство приводит к лучшим результатам. Возможно, полученные нами данные связаны с тем, что в ближайший от повреждения легких период часть ММСК «отвлекались» на нейтрализацию острого воспалительного ответа, развивающегося на введение эластазы. Известно, что острое повреждение и отек легких, вызванные бактериальными липополисахаридами, блокируются внутривенной инъекцией ММСК [15]. В нашей работе причиной гибели животных было острое эластазное повреждение легких, а большая выживаемость наблюдалась в 3 группе, что свидетельствует об участии трансплантированных в ранние сроки ММСК в преодолении этого критического состояния. Доказательством противовоспалительной активности ММСК могут являться результаты оценки индуцированной хемилюминесценции ПМ. Массированный выброс активных кислородных радикалов (синглетный кислород, перекись водорода, гипохлорит, супероксидный анион, гидроксильный и гидроперекисный радикалы, оксид азота и т.д.) в результате «метаболического взрыва» является одним из основных и начальных звеньев цитостатической и цитотоксической активации моно- и полиморфонуклеарных фагоцитов, естественных киллеров в отношении микробных, опухолевых и переживающих клеток [16, 17]. В настоящее время благодаря появлению хемилюминесцентных зондов (люминол и люцигенин) стало возможным количественное измерение активных радикалов кислорода в биологических жидкостях и культуральных средах с помощью хемилюминесцентного метода, который до сегодняшнего дня остается наиболее специфическим и высокочувствительным тестом оценки функциональной активности фагоцитов [18]. Используя ХЛ-тест, мы увидели, что, с одной стороны, введение эластазы и развитие эмфиземы усиливают способность эффекторных клеток генерировать АФК, что свидетельствует о системном воспалительном ответе. С другой стороны, в группах, получивших клеточную терапию, пик ХЛ-активности ПМ достоверно уменьшался, приближаясь к уровню здоровых контрольных крыс.

Поскольку известно, что острая гипоксия и окислительный стресс, всегда имеющие место при остром повреждении легких, являются индукторами апоптоза ММСК [19, 20], мы предполагаем, что, подвергаясь ускоренному апоптозу после выполнения противовоспалительной роли, меньшее количество ММСК участвовало в последующем процессе восстановления клеточных и каркасных структур, что объясняет больший регенеративный эффект в группе, получившей ММСК не на следующий, а на 7-й день после эластазной травмы.

Механизмы восстановления паренхимы легких в результате введения ММСК до настоящего времени окончательно не установлены. Хотя несколько исследований доказали миграцию в легкие и превращение экзогенных ММСК в альвеолярный эпителий и эндотелий [21–23], более поздние работы установили, что трансформация в альвеолоциты происходит не более чем у 1% от введенного пула клеток [24, 25]. Однако эти данные были получены не на модели эмфиземы, а при муковисцидозе и блеомициновом фиброзе. Вероятно, больший вклад в регенерацию ткани легких при эмфиземе вносят паракринные эффекты клеточной терапии. G. Zhen с соавт (2010). продемонстрировали положительное влияние ММСК на тканевую экспрессию VEGF и подавление апоптоза эпителия у крыс с эмфиземой, вызванной инстилляцией папаина в дыхательные пути.[26]. В исследовании E.P. Ingenito с соавт. (2011) на модели ЭЛ у овец показана продукция ММСК интегринов, компонентов экстрацеллюлярного матрикса (коллагена IV, ламинина и фибриллина), рецепторов фактора роста тромбоцитов и трансформирующего фактора роста β2 [27]. В той же работе установлено, что часть ММСК встраивается в альвеолярные стенки и перибронхиальный интерстиций при эндобронхиальном введении, а часть подвергается апоптозу с захватом макрофагами и дендритическими клетками.

Вероятны также активирующие эффекты экзогенных ММСК на резидентные стволовые/прогениторные клетки легких. Как и в других органах, в легких имеется собственный камбиальный резерв, включающий клетки протоков подслизистых желез трахеи, базальные клетки межхрящевых зон нижней части трахеи, клетки Клара бронхиол и альвеолярных ходов и альвеолоциты II типа [28]. Одним из путей активации резидентных камбиальных клеток легких может быть экспрессия экзогенными стволовыми/прогениторными клетками ростовых факторов, в частности фактора роста кератиноцитов [29]. По-видимому, суммация разных эффектов трансплантированных ММСК как основного компонента физиологической и репаративной регенерации различных тканей и органов взрослого организма [30] определяет как торможение развития ЭЛ, так и восстановление поврежденных структур ткани легких в острой эластазной модели.

Заключение

Наше исследование подтвердило принципиальную возможность сдерживающего, регенеративного и системного противовоспалительного эффекта при внутривенном введении аллогенных ММСК в экспериментальной модели эмфиземы легких у крыс. Учитывая низкую иммуногенность ММСК, можно ожидать подобный эффект и при введении ксеногенных ММСК, что наблюдалось в экспериментальных моделях других заболеваний [31]. Отдавая отчет в различии механизмов развития эмфиземы легких у животных при остром эластазном повреждении воздухоносных путей и у человека под влиянием хронической экспозиции табачного дыма, мы полагаем, что у больных с прогрессирующей эмфиземой, в основе которой лежит хроническое воспаление нижних дыхательных путей, трансплантация ММСК может быть эффективным методом лечения. Следующим шагом должно стать проведение клинических исследований для оценки эффективности и безопасности данной технологии. При этом успехом можно считать не только обратное развитие патологического процесса, но даже замедление прогрессирования заболевания, которое на сегодняшний день невозможно ни консервативными, ни хирургическими методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Halbert R.J., Natoli J.L., Gano A. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis. Eur. Respir. J. 2006; 28(3): 523–32.

2. National Heart Lung and Blood Institute. The definition of emphysema. Report of a division of lung diseases workshop. Am. Rev. Respir. Dis. 1985;132(1): 182–85.

3. Massaro G.D., Massaro D. Retinoic acid treatment partially rescues failed septation in rats and in mice. Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2000; 278(5): 955–60.

4. Kaza A.K., Kron I.L., Kern J.A. et al. Retinoic acid enhances lung growth after pneumonectomy. Ann. Thorac. Surg. 2001; 71(5), 1645–50.

5. Vlanovich G., Russel M.L., Mercer R.R. et al. Cellular and connective tissue changes in alveolar septal walls in emphysema. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999; 160(6): 2086–92.

6. Аверьянов А.В., Самсонова М. В., Черняев А.Л. и др. Аспекты патогенеза эмфиземы легких у больных ХОБЛ. Пульмонология 2008, (3): 35–41.

7. Zhen G., Liu H., Gu N. et al. Mesenchymal stem cells transplantation protects against rat pulmonary emphysema. Front Biosci. 2008; 13: 3415–22.

8. Schweitzer K.S., Johnstone B.H., Garrison J. et al Adipose stem cell treatment in mice attenuates lung and systemic injury induced by cigarette smoking. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2011; 183(2): 215–25.

9. Kubo H. Lung repair and regeneration – animal models. Cell therapy for lung disease. Pub. by Imperial College Press. London, 2010: 199–235.

10. Цыб А.Ф., Коноплянников А.Г., Колесникова А.И. и др. Получение и использование в медицине клеточных культур из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека. Вестник РАМН 2004; 59(9): 71–6.

11. Петров В.Н., Конопляников А.Г., Саяпина Е.В. и др. In vitro модифицирующее воздействие мезенхимальных стволовых клеток на продукцию макрофагами активных форм кислорода в аллогенной и ксеногенной системах совместных культур. В кн.: В.А.Ткачук, редактор. Аутологичные стволовые клетки. Экспериментальные исследования и перспективы клинического применения. М.: Литтерра; 2009. С. 429–48.

12. Таков Р.Г. Патологическая анатомия и патогенез хронической обструктивной эмфиземы легких [диссертация]. М; 1966.

13. Lest C.H., Versteeg E.M., Veerkamp J.H. et al. Digestion of proteoglycans in porcine pancreatic elastase-induced emphysema in rats. Eur. Respir. J. 1995; 8: 238–45.

14. Rubio M.L., Martin-Mosquero M.C., Ortega M. et al Oral N-acetylcysteine attenuates elastase-induced pulmonary emphysema in rats. Chest 2004; 125(4): 1500–6.

15. Mao M., Wang S.N., Lv X.J. et al. Intravenous delivery of bone marrow-derived endothelial progenitor cells improves survival and attenuates lipopolysaccharide-induced lung injury in rats. Shock 2010; 34(2): 196–204.

16. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука; 1989.

17. Tauber A.I, Babior B.M. O2- and host defense: the production and fate of O2- in neutrophils. Photochem. Photobiol. 1978; 28(4–5): 701–9.

18. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П. Хемилюминесценция клеток животных. В кн.: Итоги науки и техники. Биофизика. М.: ВИНИТИ; 1989.

19. Wei H., Li Z., Hu S.et al., Apoptosis of mesenchymal stem cells induced by hydrogen peroxide concerns both endoplasmic reticulum stress and mitochondrial death pathway through regulation of caspases, p38 and JNK. J.Cell. Biochem. 2010; 111: 967–78.

20. Das R., Jahr H., van Osch G.J. et al. The role of hypoxia in bone marrow-derived mesenchymal stem cells: considerations for regenerative medicine approaches Tissue Eng. Part B Rev. 2010; 16(2): 159–68.

21. Krause D.S., Theise N.D., Collector M.I. et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. Cell 2001; 105(3): 369–77.

22. Kotton D.N., Ma B.Y., Cardoso W.V. et al. Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium. Development 2001; 128(24): 5181–8.

23. Wang G., Bunnell B.A., Painter R.G. et al. Adult stem cells from bone marrow stroma differentiate into airway epithelial cells: potential therapy for cystic fibrosis. PNAS USA 2005; 102(1): 186–91.

24. Kotton D.N., Fabian A.J., Mulligan R.C. Failure of bone marrow to reconstitute lung epithelium. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2005; 33(4): 328–34.

25. Loi R., Beckett T., Goncz K.K. et al. Limited restoration of cystic fibrosis lung epithelium in vivo with adult bone marrow-derived cells. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2006; 173(2): 171–9.

26. Zhen G., Xue Z., Zhao J. et al. Mesenchymal stem cell transplantation increases expression of vascular endothelial growth factor in papain-induced emphysematous lungs and inhibits apoptosis of lung cells. Cytotherapy 2010; 12(5): 605–14.

27. Ingenito E.P., Tsai L., Murthy S. et al. Autologous lung-derived mesenchymal stem cell transplantation in experimental emphysema. Cell Transplant. 2011 Feb 3. [Epub ahead of print].

28. Roomans G.M. Tissue engineering and the use of stem/progenitor cells for airway epithelium. Euro.Cells Mat. 2010; 19: 284–99.

29. Gomperts B.N., Belperio J.A., Fishbein M.C. et al. Keratinocyte growth factor improves repair in the injured tracheal epithelium. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2007; 37(1): 48–56.

30. Mimeault M., Hauke R., Batra S.K. Stem cells: a revolution in therapeutics-recent advances in stem cell biology and their therapeutic applications in regenerative medicine and cancer therapies. Clin. Pharmacol. Ther. 2007; 82(3): 252–64.

31. Tse W.T., Pendleton J.D., Beyer W.M. et al. Supression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation Transplantation 2003; 75(3): 389–97.

Поступила 03.06.2011