

40. *Pettersson, T.* Rheumatic features of sarcoidosis / T. Pettersson // *Curr. Opin. Rheumatol.* — 1998. — Vol. 10(1). — P.73—78.
41. *Pietinalho, A.* The prognosis of pulmonary sarcoidosis in Finland and Hokkaido, Japan: A comparative five-year study of biopsy-proven cases / A. Pietinalho, M. Ohmichi, A.B. Lofroos [et al.] // *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* — 2000. — Vol. 17(2). — P.158—166.
42. *Romer, F.K.* Presentation of sarcoidosis and outcome of pulmonary changes / F.K. Romer // *Dan. Med. Bull.* — 1982. — Vol. 29(1). — P.27—37.
43. *Schoni, M.H.* On the edge of facts and hypotheses / M.H. Schoni // *Respiration.* — 2000. — Vol. 67(2). — P.135—136.
44. *Siltzbach, L.E.* Course and prognosis of sarcoidosis around the world / L.E. Siltzbach, D.G. James, E. Neville [et al.] // *Am. J. Med.* — 1974. — Vol. 57(6). — P.847—852.
45. *Sugie, T.* Clinical and autopsy studies on prognosis of sarcoidosis / T. Sugie, N. Hashimoto, K. Iwai // *Nippon Rinsho.* — 1994. — Vol. 52(6). — P.1567—1570.
46. *Takesh, M.* Incidental detection and monitoring of spontaneous recovery of sarcoidosis via fluorine-18-fluoroethyl-choline positron emission tomography/computed tomography / M. Takesh, U. Haberkorn, L.G. Strauss [et al.] // *Hell. J. Nucl. Med.* — 2012. — Vol. 15(1). — P.63—65.

© Войтковская К.С., Черняев А.Л., 2012

УДК 616.24-092.4

## СИНДРОМ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГКИХ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ, ПАТОГЕНЕЗ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ И РОЛЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЖИВОТНЫХ

**КСЕНИЯ СЕРГЕЕВНА ВОЙТКОВСКАЯ**, студентка 6-го курса факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва, Ломоносовский пр., 31, корп. 5, e-mail: ksusha-voi@yandex.ru  
**АНДРЕЙ ЛЬВОВИЧ ЧЕРНЯЕВ**, докт. мед. наук, профессор, зав. отделом патологии ФГУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России, Москва, ул. 11-я Парковая, 32, e-mail: cheral12@gmail.com

**Реферат.** Синдром острого повреждения легких (СОПЛ) является клиническим синдромом, имеющим четкие гистологические критерии повреждения структур ткани легкого. СОПЛ имеет широкое распространение в клинической практике и высокую летальность. В статье описаны определение, клиника, этиология, патогенез, экспериментальные модели воспроизведения СОПЛ, приведены данные литературы о роли мезенхимальных стволовых клеток (МСК) при лечении СОПЛ у животных, вызванного действием липополисахаридных комплексов.

**Ключевые слова:** синдром острого повреждения легких, эксперимент, липополисахарид, мезенхимальные стволовые клетки.

## ACUTE LUNG INJURY: THE DEFINITION, PATHOGENESIS, ANIMAL MODELS AND THE ROLE OF MESENCHYMAL STEM CELLS IN EXPERIMENTAL TREATMENT

**KSENIYA S. VOYTKOVSKAYA**, student of Faculty of Basic Medicine MSU, Russia, Moscow, Lomonosovskiy prospect, 31, corp. 5, e-mail: ksusha-voi@yandex.ru

**ANDREY L. CHERNIAEV**, MD, professor, head of pathology department FSI "Pulmonary Research Institute" Federal Medical and Biological Agency of Russia, Russia, Moscow, 11th Parkovaya street, 32, e-mail: cheral12@gmail.com

**Abstract.** Acute lung injury (ALI) is a clinical syndrome with definite histological criteria of lung structure lesion. ALI is widespread in clinical practice and has a high lethality. In this article we describe the definition, clinics, etiology, pathogenesis, animal models of ALI. In this review we describe a role of mesenchymal stem cells (MSC) in treatment of experimental ALI, induced by lipopolysaccharide.

**Key words:** acute lung injury, experiment, lipopolysaccharide, mesenchymal stem cells.

Впервые острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) был описан в 1967 г. D.G. Ashbaugh [1]. С тех пор было несколько попыток дать определение ОРДС и СОПЛ [2]. Эти термины можно определить через диагностические критерии, разработанные Американско-европейской согласительной конференцией в 1994 г. [3]: 1) острое начало; 2) диффузные билатеральные инфильтраты в легком на радиограмме грудной клетке; 3) давление в легочной артерии  $\leq 18$  мм рт. ст. или отсутствие клинических признаков гипертензии левого предсердия; 4) при СОПЛ респираторный индекс  $PaO_2/FiO_2 < 300$ , при ОРДС  $PaO_2/FiO_2 < 200$ . Таким образом, СОПЛ и ОРДС различают по выраженности гипоксемии.

Федерацией анестезиологов и реаниматологов в России принято такое определение: СОПЛ и ОРДС — это остро развивающиеся осложнения различных, как правило, тяжелых заболеваний и травм, выражающиеся неспецифическим поражением легких и проявляющиеся клинической картиной быстро нарастающей дыхательной недостаточности, клинико-лабораторными признаками прогрессирующего снижения легочного комплайенса, диффузии кислорода через альвеолокапиллярную мембрану, возрастания венозно-артериального шунтирования крови, устранение которых требует применения респираторной поддержки и других методов коррекции кислородтранспортной функции крови [4].

Распространенность СОПЛ и ОРДС в США составляет 78,9 и 58,7 на 10 000 населения в год соответственно. В мире летальность при ОРДС достигает 30—40%, в России — 40—60% и различается в зависимости от этиологического фактора, приведшего к ОРДС [4, 5]. В Европе около 7% пациентов, находящихся на ИВЛ, страдают ОРДС [6]. ОРДС является основной причиной дыхательной недостаточности у больных реанимационных отделений [2]. Примерно 25% всех наблюдений ОРДС связано с сепсисом.

СОПЛ и ОРДС являются полиэтиологическими синдромами. Основные причины, приводящие к развитию СОПЛ и ОРДС, приведены в *табл. 1* [4]. СОПЛ, развившийся в результате прямого воздействия на легкие, составляет 55% всех наблюдений СОПЛ, 20% составляет СОПЛ, развившийся без прямого действия на легкие, 21% составляет СОПЛ смешанной этиологии и 4% с неустановленной этиологией [6].

Физиологические изменения в острой фазе СОПЛ включают тяжелую гипоксемию и снижение комплайенса легких, снижение функциональной остаточной емкости, а также нарушение вентилиционно-перфузионного соотношения и увеличение числа шунтов.

Острая фаза СОПЛ характеризуется выходом в альвеолярные пространства богатого белком экссудата вследствие повышения проницаемости альвеолярно-капиллярного барьера. В этом процессе важную роль играет как повышение сосудистой проницаемости вследствие эндотелиального повреждения, так и повреждение альвеолярного эпителия.

Повышение сосудистой проницаемости происходит первично на уровне микрососудов легких и может приводить к накоплению экссудата в альвеолярных пространствах даже при нормальном давлении в сосудах легких. Описано несколько механизмов, вызывающих повреждение эндотелия, среди которых наибольшее внимание уделяется механизму, опосредованному полиморфно-ядерными лейкоцитами (ПЯЛ). Секвестрация и миграция ПЯЛ, вызванная как выработкой хемоаттрактантов в самом легком, так и активацией

нейтрофилов циркулирующими медиаторами, является характерной гистологической особенностью ОРДС [7]. ПЯЛ преобладают в экссудате в просветах альвеол и в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ), полученной от пациентов с ОРДС. В альвеолярном пространстве происходит активация и дегрануляция ПЯЛ с высвобождением протеаз, активных форм кислорода, провоспалительных цитокинов и прокоагулянтов, которые вызывают повышение сосудистой проницаемости и дисфункцию эндотелия. Клеточный и гуморальный компоненты СОПЛ/ОРДС тесно взаимосвязаны. Так, выделение макрофагами цитокинов [фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкинов 1 и 6, интерферона] приводит к повреждению эндотелия, что еще более усиливает синтез медиаторов воспаления. Благодаря механизму обратной связи TNF- $\alpha$  активирует нейтрофилы и потенцирует синтез других цитокинов. Интерлейкин 1 не только потенцирует пирогенный эффект цитокинов, но и вместе с TNF- $\alpha$  стимулирует выход из активированных клеток токсичных свободных радикалов и протеолитических ферментов. Существуют работы, указывающие на то, что тромбоциты могут играть определенную роль в повреждении, опосредованном нейтрофилами. Тромбоциты могут взаимодействовать с нейтрофилами и моноцитами и сами по себе являются источником провоспалительных цитокинов. Тромбоцитопения значительно уменьшает повреждение легких в экспериментальной модели [8].

Изолированного повышения проницаемости сосудов легкого еще недостаточно для того, чтобы экссудат вышел в альвеолярное пространство [9], необходимо также повышение проницаемости альвеолярного эпителия, которая также опосредована ПЯЛ. При СОПЛ миграция большого количества активированных нейтрофилов и выделяемые ими токсические вещества (эластаза, матриксные металлопротеазы, катионные белки, такие как дефенсины, и активные формы кислорода) могут приводить к разрушению плотных контактов между альвеолоцитами, апоптозу и некрозу альвеолоцитов [10, 11].

Таблица 1

Причины СОПЛ и ОРДС

Оказывающие прямое воздействие на легкие (легочные)	Не оказывающие прямое воздействие на легкие (внелегочные)
<p>Более частые:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Легочная инфекция (пневмония неаспирационного генеза, цитомегаловирусная инфекция)</li> <li>• Аспирационная пневмония вследствие аспирации жидкостей (желудочный сок, жидкие углеводороды)</li> </ul> <p>Менее частые:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ингаляция токсических веществ (высокие концентрации кислорода, дым, едкие химикалии — двуокись азота, соединения аммония, кадмия, хлора, фосген)</li> <li>• Ушиб легкого</li> <li>• Жировая эмболия</li> <li>• Радиационный пневмонит</li> <li>• Эмболия легочной артерии</li> <li>• Утопление</li> <li>• Реперфузионный механизм</li> </ul>	<p>Более частые:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Шок любой этиологии</li> <li>• Инфекция (сепсис, перитонит и т.п.)</li> <li>• Тяжелая травма</li> <li>• Массивные гемотрансфузии</li> </ul> <p>Менее частые:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Острый панкреатит</li> <li>• Искусственное кровообращение</li> <li>• Острые отравления</li> <li>• Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови (ДВС-синдром)</li> <li>• Ожоги</li> <li>• Острая черепно-мозговая травма (ЧМТ)</li> <li>• Уремия</li> <li>• Карциноматоз лимфатической системы</li> <li>• Эклампсия</li> <li>• Состояние после кардиоверсии</li> <li>• Инфаркт кишечника</li> <li>• Внутриутробная гибель плода</li> <li>• Тепловой удар</li> <li>• Гипотермические повреждения</li> <li>• Обширные хирургические вмешательства</li> <li>• Сердечно-легочная реанимация</li> </ul>

Вследствие повреждения альвеолоцитов II типа нарушается транспорт ионов, что препятствует оттоку жидкости из альвеолярного пространства [12]. Кроме того, повреждение альвеолоцитов II типа приводит к нарушению синтеза сурфактанта [13]. Поскольку альвеолоциты II типа способны к дифференцировке в альвеолоциты I, их повреждение препятствует физиологическому восстановлению целостности альвеолярной стенки. Повреждение альвеолярного эпителия приводит к обнажению базальной мембраны, и на нее откладываются волокна фибрина, что приводит к образованию «гиалиновых мембран». Тяжелое повреждение альвеолярного эпителия и нарушение его репарации приводит к легочному фиброзу в исходе СОПЛ [14].

Лечение СОПЛ и ОРДС проводят в отделениях реанимации и интенсивной терапии, в него входит искусственная вентиляция легких в режиме РЕЕР, глюкокортикостероиды, ингаляции сурфактанта, оксида азота, антибактериальная терапия, антикоагулянты, инфузионная терапия [14].

К осложнениям СОПЛ и ОРДС относят развитие синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания и полиорганной недостаточности (присоединение к дыхательной недостаточности сердечной, почечной и/или церебральной).

Выделяют три стадии патогистологических изменений легких при СОПЛ [14]:

Ранняя экссудативная стадия (1—5-е сут) характеризуется повреждением альвеолоцитов, секвестрацией и миграцией ПЯЛ в просвет альвеол, нарушением проницаемости альвеолокапиллярной мембраны, интерстициальным и внутриальвеолярным отеком легких, образованием гиалиновых мембран, скоплением эритроцитов в просветах альвеол и наличием обтурирующих тромбов в микрососудах.

Фибропролиферативная стадия (6—10-е сут) — дифференцировка альвеолоцитов II типа в альвеолоциты I типа, разрешение отека легких, миграция мононуклеарных клеток, пролиферация фибробластов с отложением коллагена.

Фибротическая стадия (с 10-х сут) — развитие интерстициального и интраальвеолярного фиброза легких, фиброзеластоза интимы, гипертрофии мышечного слоя легочных артериол с облитерацией их просветов.

### Экспериментальные модели СОПЛ

Модели СОПЛ у животных позволяют раскрыть механизмы, лежащие в основе возникновения, прогрессирования и разрешения этого синдрома, а также найти новые мишени для фармакологического воздействия. Однако ни одна такая модель полностью не отражает всю совокупность местных и системных изменений, происходящих при СОПЛ у человека.

Большинство моделей острого повреждения легких у животных основано на воспроизведении известных факторов риска СОПЛ — сепсиса, жировой эмболии при переломах трубчатых костей, аспирации кислоты, ишемии-реперфузии сосудов легких [15]. Так же описаны экспериментальные модели на изолированном легком человека [16].

В табл. 2 приведены экспериментальные модели острого повреждения легких [15].

### Общая характеристика эндотоксиновой модели СОПЛ

Среди моделей острого повреждения легкого наиболее распространено введение LPS. LPS — это гликолипид клеточной стенки грамотрицательных бактерий, который состоит из полярной липидной головки (липид А) и цепи повторяющихся дисахаридов (О-цепь). Боль-

Таблица 2

Экспериментальные модели острого повреждения легких

Модель	Какие особенности СОПЛ отражает	Отличия от СОПЛ человека	Технические сложности
Олеиновая кислота	Острая фаза и фаза репарации гистопатологически и физиологически сходна с СОПЛ	Имеет сходство только с ОРДС человека, вызванным жировой эмболией. Не отражает патологию септического ОРДС	Хорошо воспроизводимая модель. Требуется внутривенное введение олеиновой кислоты, что может быть сложно у маленьких животных
LPS	Нейтрофильное воспаление с увеличением количества внутрилегочных цитокинов	Изменения альвеолярно-капиллярной проницаемости невелики	Эксперимент хорошо воспроизводим
Аспирация кислоты	Нарушение альвеолярного и капиллярного барьера с нейтрофильной инфильтрацией	У человека происходит аспирация желудочного содержимого, а не чистой кислоты	Эксперимент хорошо воспроизводим. Небольшой интервал между повреждающей и неповреждающей дозой
Повышенное содержание кислорода в воздухе	Острая фаза эпителиального повреждения сменяется пролиферацией альвеолоцитов II типа и фиброзом	В легком человека 100% кислород не вызывает повреждения; вовлечена ли гипероксия в патогенез ОРДС не ясно	Хорошая воспроизводимость эксперимента. Требуется специальное оборудование для обеспечения и мониторинга желаемого газового состава
Блеомицин	Острое воспалительное повреждение с последующим обратимым фиброзом	Не формируются гиалиновые мембраны. Физиопатологическое сходство не установлено	Хорошая воспроизводимость
Легочная ишемия-реперфузия	Увеличение проницаемости сосудов легких, инфильтрация полиморфно-ядерными нейтрофилами	Геморрагическое повреждение	Требуется сложная хирургическая операция

Модель	Какие особенности СОПЛ отражает	Отличия от СОПЛ человека	Технические сложности
Ишемия-реперфузия других органов	Увеличенная проницаемость микрососудов и секвестрация полиморфно-ядерных нейтрофилов в легких	Воспалительный компонент органичен интерстицием	Требуется хирургическое вмешательство
Внутривенное введение бактерий	Интерстициальный отек, секвестрация полиморфно-ядерных нейтрофилов	Минимально выраженный нейтрофильный альвеолит. Гиалиновые мембраны не образуются	Важное значение имеет выбор бактерии
Внутрилегочное введение бактерий	Увеличенная проницаемость сосудов, интерстициальный отек, нейтрофильный альвеолит	Высевание культуры в дебюте ОРДС у человека редко	Важное значение имеет выбор бактерии
Лигирование и пункция слепой кишки	Увеличена проницаемость сосудов, нейтрофильный альвеолит	Формирование гиалиновых мембран минимально	Необходимо хирургическое вмешательство

шинство биологических эффектов LPS обусловлено действием липида A [17].

Гемодинамический ответ на внутривенное введение LPS характеризуется начальной фазой лейкопении, снижением сердечного выброса и падением артериального давления. Давление в легочной артерии повышается, что связано в основном с увеличением сопротивления посткапиллярных вен [18]. За начальной фазой следует медленное нарастание числа ПЯЛ и улучшение гемодинамики в течение 4—6 ч. Изменения в функции легких становятся сильно выражены в течение 2—4 ч и включают гипоксемию с повышением альвеолярно-артериальной разницы по кислороду. Введение LPS как внутривенно, так и интратрахеально сопровождается привлечением ПЯЛ в легочные капилляры. При внутривенном введении LPS первоначально повреждается эндотелий капилляров. Однако при внутривенном введении LPS лишь небольшое число ПЯЛ мигрируют в просветы альвеол [19]. Привлечение ПЯЛ происходит до того, как изменится проницаемость эпителия или нарушится альвеолярно-капиллярный барьер. Напротив, при интратрахеальном введении LPS происходит значительное увеличение числа ПЯЛ в просветах альвеол.

Ответ на введение LPS зависит от того, какой LPS используется. LPS, полученный от бактерий, образующих гладкие колонии, содержит O-цепь, состоящую из переменного числа повторяющихся дисахаридов, и такой LPS менее пирогенен. LPS, синтезируемый бактериями из шероховатых колоний, не обладает O-цепью и имеет более пирогенные свойства [19]. LPS также часто загрязнен, например, бактериальными липопroteинами, которые могут влиять на биологическое действие LPS, взаимодействуя с другими TLR-рецепторами [20].

К достоинствам использования LPS для моделирования СОПЛ можно отнести хорошую воспроизводимость эксперимента. LPS — мощный активатор врожденного иммунитета, обладает низкой прямой токсичностью на клетки *in vitro*.

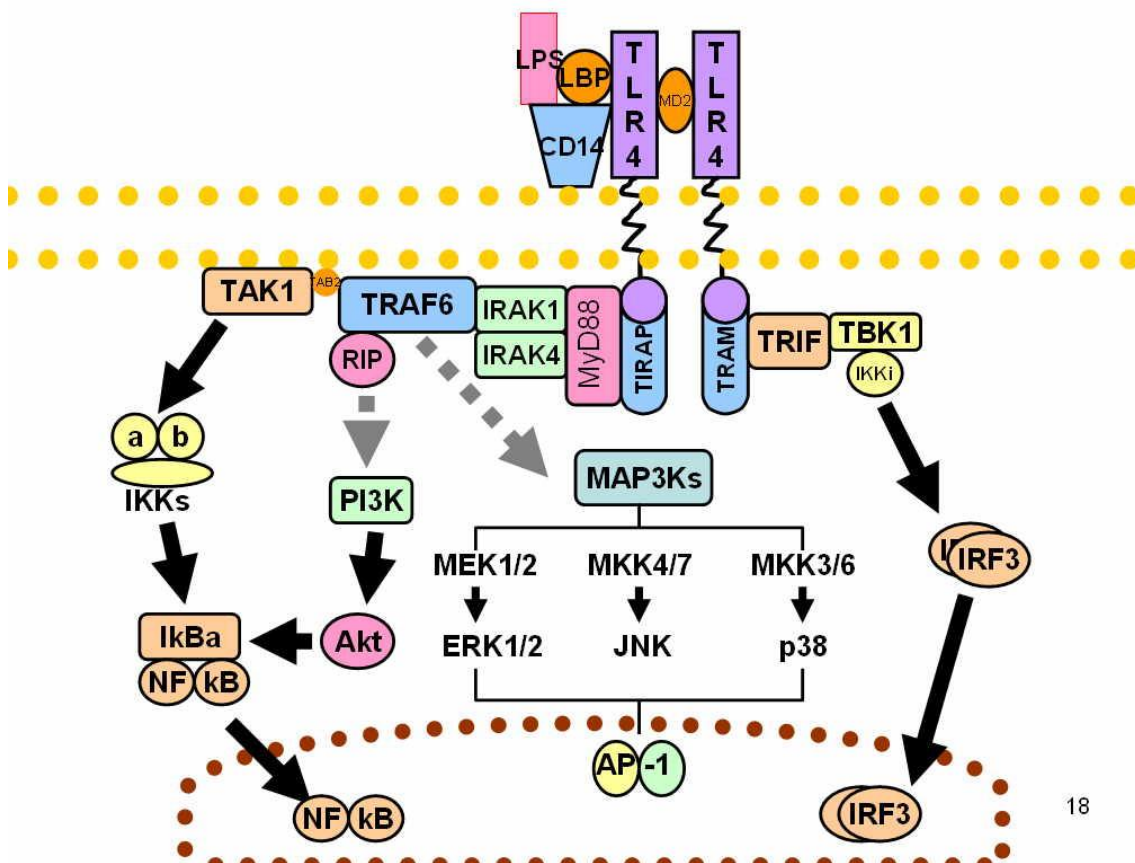
К недостаткам LPS можно отнести наличие примесей бактериальных липопroteинов при недостаточной чистоте препарата. Воздействие LPS не вызывает такого тяжелого эндотелиального и эпителиального повреждения, которое происходит у людей при ОРДС [19]. Таким образом, хотя введение LPS для моделирования СОПЛ наиболее распространено, оно полностью не воспроизводит картину СОПЛ.

### Молекулярные механизмы возникновения повреждений, вызванных LPS

LPS вызывает воспалительный ответ, взаимодействуя со специфическими белками организма-хозяина, запуская продукцию цитокинов. В острую фазу воспалительного ответа LPS связывается с LPS-связывающим белком плазмы крови (LBP). Этот белок усиливает ряд эффектов LPS, включая регуляцию CD18, увеличение адгезивных свойств нейтрофилов и продукции цитокинов (включая выброс TNF- $\alpha$  альвеолярными макрофагами). Далее комплекс LPS-LBP взаимодействует с секреторным или мембраносвязанным CD14 [21], запуская внутриклеточный каскад и развитие повреждения легкого (рисунк).

В БАЛЖ пациентов с ОРДС обнаружено повышенное количество LBP и CD14, которое коррелирует с увеличением в БАЛЖ общего белка и ПЯЛ [17]. Эти данные указывают на то, что эндотоксин принимает активное участие в развитии ОРДС у человека.

Комплекс LPS/CD14 взаимодействует с адаптерной молекулой MD2, которая обеспечивает распознавание комплекса Toll-подобным рецептором 4 (TLR4), который находится на поверхности моноцитов, нейтрофилов и других клеток, участвующих в высвобождении медиаторов воспаления [23]. TLR относится к большому суперсемейству трансмембранных сигнальных образраспознающих рецепторов (pattern recognition receptors — PRR) I типа — рецепторов IL-1 [24]. Молекулярная структура TLR характеризуется наличием экстра- и интрацеллюлярного цитозольного доменов. Экстрацеллюлярный переменный N-терминальный домен содержит повторяющиеся олигопептидные фрагменты с высоким содержанием лейциновых повторов (leucine-rich repeats — LRR), которые являются структурно-молекулярной основой его способности взаимодействовать с лигандами. Расположенный с внутренней стороны клеточной мембраны цитозольный C-терминальный домен содержит структурно высококонсервативную последовательность, состоящую примерно из 200 аминокислотных остатков, гомологичную рецептору IL-1 $\beta$ , в связи с чем получившую название Toll-интерлейкин-1-рецептор (TIR). Проведение активационного сигнала после связывания LPS обеспечивают внутриклеточные домены TLR4 путем взаимодействия между TIR-доменом TLR4 и TIR-доменом внутриклеточных адаптерных белков: протеина 88 первичного ответа миелоидной дифференцировки (MyD88), TIR-доменосодержащего адаптерного про-



18

Механизм LPS-опосредованного повреждения легкого [22]

теина (TIRAP), TIR-доменсодержащего адаптерного протеина, индуцирующего  $\beta$ -интерферон (TRIF) или TRIF-связанной адаптерной молекулы (TRAM).

TIR-TIR-взаимодействие между TLR4 и MyD88 приводит к фосфорилированию серин/треониновых ассоциированных с рецептором к интерлейкину-1 киназа 1 и 4 (IRAK1 и IRAK4) [25]. Вслед за этим происходит активация внутриклеточного ассоциированного с рецептором некроза опухоли фактора 6 (TRAF6). Далее цитоплазматически расположенная активируемая трансформирующим фактором роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ) киназа 1 (TAK1) фосфорилирует ингибиторную субъединицу IKK $\gamma$ /I $\kappa$ B-киназного комплекса (IKK), и IKK приобретает активную димерную форму IKK $\alpha$ /IKK $\beta$ . Возбужденная IKK фосфорилирует ингибиторные I $\kappa$ B-белки, далее происходит освобождение и транслокация ядерного фактора транскрипции каппа В (NF- $\kappa$ B) в ядро, что приводит к началу экспрессии генов цитокинов, NO-синтазы и генов других медиаторов, ферментов и регуляторных молекул воспаления [26]. В результате активируются все основные клеточные функции, связанные с развитием фагоцитоза и представлением антигенов, продукцией NO и свободных форм кислорода, синтезом низкомолекулярных медиаторов воспаления и группы провоспалительных цитокинов, к которым относятся интерлейкины: IL-1, IL-6, IL-18, TNF- $\alpha$ , интерфероны I типа, хемокины.

В цитоплазме клетки TAK1 также возбуждает митогенассоциированные протеинкиназы (MAPK) — p38 MAPK, экстрацеллюлярную регулируемую киназу 1/2 (ERK1/2) и NH2-терминальную киназу Януса (JNK) [27], которые индуцируют представителей других классов

факторов транскрипции, в частности активирующий протеин 1 (AP-1).

В передаче сигнала возбуждения, ассоциированного с адаптерной молекулой TRIF, участвует TRAF-ассоциированный NF- $\kappa$ B активатор (TANK) связанная киназа-1 (TBK1), мишенью которой являются интерферонрегулирующие факторы транскрипции (IRF) [25].

В системном кровотоке эндотоксин активирует систему комплемента, праймирует и стимулирует нейтрофилы и моноциты. За праймингом ПЯЛ следует их активация компонентами комплемента, которая вносит вклад в развитие СОПЛ.

LPS также может вызывать толерантность к воспалительным воздействиям. Введение сублетальной дозы LPS приводит к уменьшению воспалительного ответа на последующие введения.

#### Патогистологические признаки повреждения легких при введении LPS

Показано, что через 15 мин после внутривенного введения LPS определяется аккумуляция, маргинация, дегрануляция и фрагментация ПЯЛ и активация лимфоцитов в микрососудах легочной ткани. Еще через 15 мин эти изменения становятся более выраженными и начинается миграция ПЯЛ в интерстиций с развитием интерстициального отека. Спустя 60 мин после внутривенной инъекции LPS наблюдалось повреждение ПЯЛ, альвеолоцитов I типа, эндотелиальных клеток и сосудистых стенок с развитием периваскулярного отека. Параллельно с этими нарушениями развивается нейтропения в крови при одновременном 6-кратном увеличении числа ПЯЛ в легких [28].

Через 2 ч после внутривенного введения LPS наблюдается увеличенное поступление ПЯЛ в легкие без явлений его отека. На фоне лейкопении в общем кровотоке увеличивается число нейтрофилов и моноцитов в просветах сосудов легких. На внешней стороне альвеолярных стенок или между альвеолоцитами видны мигрирующие ПЯЛ [29].

Через 24 ч после ингаляции LPS гистологически видна диффузная бронхопневмония с наличием умеренного или выраженного числа ПЯЛ в терминальных и респираторных бронхиолах. Кроме того, наблюдалась гиперплазия альвеолоцитов II типа и увеличение числа альвеолярных макрофагов в паренхиме легкого [30].

#### **Мезенхимальные стволовые клетки при лечении экспериментальной патологии легких**

Стволовые клетки (СК) обладают тремя основными свойствами: асимметричным делением, в результате которого одна дочерняя клетка становится коммитированной, а другая остается стволовой, способностью к самообновлению, т.е. пролиферации без дифференцировки, и способностью через стадию прогениторных клеток проходить дифференцировку в специализированные типы клеток. По происхождению различают эмбриональные и соматические СК, СК костного мозга — гемопоэтические, мезенхимальные и регионарные СК.

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) — это гетерогенная популяция мультипотентных стволовых клеток, у которых нет специфических маркеров. Существуют минимальные критерии определения МСК: способность адгезировать к пластику, способность к дифференцировке хотя бы в адипоциты, хондроциты и остециты, наличие фенотипов CD90+, CD73+, CD105+, CD34-, CD45-, CD14-, CD19-, HLA-DR-, CD11b- и CD79α [31]. Отсутствие антигенов CD14, CD34 и CD45 позволяет дифференцировать МСК от гемопоэтических клеток-предшественников [32].

МСК могут дифференцироваться в различные типы соединительной ткани: жировую ткань, строму костного мозга, хрящевую, грубоволокнистую соединительную и костную ткань. МСК можно выделить из жировой ткани, скелетных мышц, синовиальной жидкости, селезенки, тимуса, крови, легких, фетальной крови и амниотической жидкости. Наиболее доступно выделение МСК из костного мозга.

При культивировании *in vitro* МСК, как и другие прогениторные клетки, проходит последовательно 3 фазы: латентную фазу продолжительностью до 3—4 дней, фазу быстрого удвоения (логарифмическая кривая роста) и стационарную фазу. В стационарной фазе клетки не подвержены контактному торможению. МСК обладают высокой пролиферативной активностью и в оптимальных условиях культивирования сохраняют способность к дифференцировке после 50 и более удвоений [33]. Изучение клеточного цикла МСК выявило, что около 10% этих клеток активно пролиферируют (фазы S, G2 и M), в то время как остальные клетки остаются в фазе G0/G1 [34], что указывает на высокую способность этих клеток к дифференцировке.

МСК костного мозга создают нишу для гемопоэтических стволовых клеток (ГСК): путем непосредственного взаимодействия клеток, через выброс цитокинов и ростовых факторов МСК способствуют поддержанию и обновлению ГСК, а также участвуют в их пролиферации,

дифференцировке и выходе зрелых предшественников в кровеносное русло [35].

МСК экспрессируют широкий спектр молекул адгезии (STRO-1, VCAM-1, ICAM-1/2, ALCAM-1, L-селектин, CD105, CD44), интегринов, рецепторов к ростовым факторам (bFGFR, PDGFR, EGFR, TGFβ1R/IIIR), рецепторов хемокинов (рецепторы к интерлейкинам, CC и CXC) и продуцируют множество матриксных молекул, например, фибронектин, коллаген I, III и IV типа, ламинин, гиалуроновую кислоту и протеогликаны [36]. Экспрессия рецепторов к хемокинам приводит к широко известному эффекту хоуминга МСК в поврежденные ткани по градиенту хемокинов [37].

МСК экспрессируют очень низкое число молекул главного комплекса гистосовместимости I (MHC I) и не экспрессируют костимуляторные молекулы CD80, CD86, CD40, поэтому обладают низкой иммуногенностью [38]. Более того, они подавляют активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов [39] и В-лимфоцитов [40]. В связи с этими свойствами МСК широко применяются в регенеративной медицине.

Эффективность МСК показана при идиопатическом фиброзе легкого в модели повреждения легкого блеомицином [41]: после введения МСК наблюдалось уменьшение степени выраженности воспаления и отложения коллагена в легком. Это объясняется преимущественно паракринными эффектами МСК: выделением цитокинов и хемокинов. Большое значение имеет антагонист рецептора к интерлейкину-1, который блокирует путь передачи провоспалительного сигнала с интерлейкина-1β.

На модели кистозного фиброза легких было показано, что МСК мигрируют в легкие и трансформируются в альвеолоциты [42], однако позже было показано, что это происходит всего у 1% МСК [43]. G. Zhen et al. показали увеличение экспрессии VEGF и подавление апоптоза альвеолярного эпителия под воздействием МСК у крыс с эмфиземой легких, индуцированной инстилляцией папаина в трахею [44].

При остром повреждении легкого мыши, вызванного LPS, показано, что МСК уменьшают системный воспалительный ответ и увеличивают выживаемость животных [45, 46]. Несмотря на наличие TLR4 на поверхности МСК, эти клетки не влияют на распределение LPS и не участвуют в его клиренсе. Эффект МСК, по всей видимости, связан с подавлением острого воспалительного ответа на введение LPS, с уменьшением количества провоспалительных цитокинов и увеличением количества противовоспалительных цитокинов, особенно IL-10. Другое исследование показало, что IL-10 секретируется первично моноцитами и альвеолярными макрофагами в ответ на выброс простагландина E2 МСК [47]. Введение МСК или культивационной среды может сделать обратимым повреждение, вызванное гипероксией у перинатальных мышей и крыс [48, 49]. Кроме того, показана эффективность МСК или среды, в которой культивировались МСК, при тяжелом повреждении перфузируемого *ex vivo* легкого эндотоксином: введение МСК через час после введения эндотоксина нормализовало сосудистую и эпителиальную проницаемость, уменьшило отек легких и способствовало ускорению клиренса жидкости из альвеолярных пространств [50]. Такой же эффект давало введение среды, в которой культивировались МСК.

**Заключение.** Распространенность СОПЛ как одного из тяжелых легочных осложнений составля-

ет от 58,7 до 78,9 на 100 тыс. населения в США с высокой летальностью во всем мире, достигающей 30—60%. Изучение СОПЛ в экспериментальных моделях имеет важное значение для подбора адекватной терапии этого состояния. Одним из возможных перспективных методов коррекции проявлений СОПЛ могут служить мезенхимальные стволовые клетки, влияющие на отдельные звенья патогенеза этой патологии легких.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Ashbaugh, D.G. Acute respiratory distress in adults / D.G. Ashbaugh, D.B. Bigelow, T.L. Petty, B.E. Levine // *Lancet*. — 1967. — Vol. 2. — P.319—323.
- Ware, L.B. The Acute Respiratory Distress Syndrome / L.B. Ware, A.M. Matthay // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 342. — P.1334—1349.
- Bernard, G.R. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination / G.R. Bernard, A. Artigas, K.L. Brigham [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1994. — Vol. 149. — P.818—824.
- Общероссийская общественная организация «Федерация анестезиологов и реаниматологов». Протокол ведения больных. Диагностика и интенсивная терапия синдрома острого повреждения легких и острого респираторного дистресс-синдрома. Принят на X съезде анестезиологов и реаниматологов 21 сентября 2006 года. — URL: <http://far.org.ru/Data/farDisk/Protokoly/2.htm>  
Obwerosijskaja obwestvennaja organizacija «Federacija anesteziologov i reanimatologov» Protokol vedenija bol'nyh. Diagnostika i intensivnaja terapija sindroma ostrogo povrezhdenija legkih i ostrogo respiratornogo distress-sindroma. Prinjat na X s'ezde anesteziologov i reanimatologov 21 sentjabrja 2006 goda. — URL: <http://far.org.ru/Data/farDisk/Protokoly/2.htm>
- Gordon, D. Incidence and Outcomes of Acute Lung Injury / D. Gordon, E.C. Rubenfeld, E. Peabody [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 2005. — Vol. 353. — P.1685—1693.
- Brun-Buisson, C. Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. Results from the ALIVE study / C. Brun-Buisson, C. Minelli, G. Bertolini [et al.] // *Intensive Care Med.* — 2004. — Vol. 30. — P.51—61.
- American Thoracic Society. Round Table Conference: acute lung injury // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1998. — Vol. 158. — P.675—679.
- Looney, M.R. Platelet depletion and aspirin treatment protect mice in a two-event model of transfusion-related acute lung injury / M.R. Looney, J.X. Nguyen, Y. Hu [et al.] // *J. Clin. Invest.* — 2009. — Vol. 119, № 11. — P.3450—3461.
- Wiener-Kronish, J.P. Differential responses of the endothelial and epithelial barriers of the lung in sheep to *Escherichia coli* endotoxin / J.P. Wiener-Kronish, K.H. Albertine, M.A. Matthay // *J. Clin. Invest.* — 1991. — Vol. 88, № 3. — P.864—875.
- Albertine, K.H. Fas and Fas Ligand Are Up-Regulated in Pulmonary Edema Fluid and Lung Tissue of Patients with Acute Lung Injury and the Acute Respiratory Distress Syndrome / K.H. Albertine, M.F. Soulier, Z. Wang [et al.] // *Am. J. Pathol.* — 2002. — Vol. 161, № 5. — P.1783—1796.
- Zemans, R.L. Transepithelial migration of neutrophils: mechanisms and implications for acute lung injury / R.L. Zemans, S.P. Colgan, G.P. Downey // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* — 2009. — Vol. 40, № 5. — P.519—535.
- Modelska, K. Acid-induced lung injury: protective effect of anti-interleukin-8 pretreatment on alveolar epithelial barrier function in rabbits / K. Modelska, J.F. Pittet, H.G. Folkesson [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1999. — Vol. 160. — P.1450—1456.
- Lewis, J.F. Surfactant and the adult respiratory distress syndrome / J.F. Lewis, A.H. Jobe // *Am. Rev. Respir. Dis.* — 1993. — Vol. 147. — P.218—233 [Erratum, *Rev. Respir. Dis.* — 1993. — Vol. 147. — P.1068].
- Bitterman, P.B. Pathogenesis of fibrosis in acute lung injury / P.B. Bitterman // *Am. J. Med.* — 1992. — Vol. 92. — P.39S—43S.
- Matute-Bello, G. Animal models of acute lung injury / G. Matute-Bello, W.F. Charles, R.M. Thomas // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* — 2008. — Vol. 295, № 3. — P.L379—L399.
- Lee, J.W. Allogeneic human mesenchymal stem cells for treatment of *E. coli* endotoxin-induced acute lung injury in the ex vivo perfused human lung / J.W. Lee, X. Fang, N. Gupta [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2009. — Vol. 106. — P.16357—16362.
- Schroemm, A.B. Biological activities of lipopolysaccharides are determined by the shape of their lipid A portion / A.B. Schroemm, K. Brandenburg, H. Loppnow [et al.] // *Eur. J. Biochem.* — 2000. — Vol. 267, № 7. — P.2008—2013.
- Kuida, H. Effect of gram-negative endotoxin on pulmonary circulation / H. Kuida, L.B. Hinshaw, R.P. Gilbert, M.B. Visscher // *Am. J. Physiol.* — 1958. — Vol. 192. — P.335—344.
- Komuro, T. Comparison of R- and S-form lipopolysaccharides fractionated from *Escherichia coli* UKT-B lipopolysaccharide in pyrogen and Limulus tests / T. Komuro, C. Yomota, T. Kimura, C. Galanos // *FEMS Microbiol. Lett.* — 1989. — Vol. 51, № 1. — P.79—83.
- Tapping, R.I. Toll-like receptor 4, but not toll-like receptor 2, is a signaling receptor for *Escherichia coli* and *Salmonella* lipopolysaccharides / R.I. Tapping, S. Akashi, K. Miyake [et al.] // *J. Immunol.* — 2000. — Vol. 165, № 10. — P.5780—5787.
- Akashi, S. Regulatory roles for CD14 and phosphatidylinositol in the signaling via toll-like receptor 4-MD-2 / S. Akashi, H. Ogata, F. Kirikae [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2000. — Vol. 268. — P.172—177.
- URL: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Toll-like\\_receptor\\_pathways\\_revised.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Toll-like_receptor_pathways_revised.jpg)
- Nagai, Y. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution / Y. Nagai, S. Akashi, M. Nagafuku [et al.] // *Nat. Immunol.* — 2002. — Vol. 3. — P.667—672.
- Takeda, K. Toll-like receptors / K. Takeda, T. Kaisho, S. Akira // *Ann. Rev. Immunol.* — 2003. — Vol. 21. — P.335—376.
- Basu, S. Toll-like receptors: function and roles in lung disease / S. Basu, M.J. Fenton // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* — 2004. — Vol. 286. — P.L887—L892.
- Muzio, M. IRAK (Pelle) family member IRAK-2 and MyD88 as proximal mediators of IL-1 signaling / M. Muzio, J. Ni, P. Feng, V. Dixit // *Science*. — 1997. — Vol. 278 (5343). — P.1612—1617.
- Guillot, L. Response of Human Pulmonary Epithelial Cells to Lipopolysaccharide Involves Toll-like Receptor 4 (TLR4)-dependent Signaling Pathways. Evidence for an intracellular compartmentalization of TLR4 / L. Guillot, S. Medjane, K. Le-Barillec [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279. — P.2712—2718.
- Meyrick, B. Acute effects of *E. coli* endotoxin on the pulmonary microcirculation of anesthetized sheep: structure-function relationships / B. Meyrick, K.L. Brigham // *Lab. Invest.* — 1983. — Vol. 48. — P.458—470.
- Williams, J.H. Activated pulmonary vascular neutrophils as early mediators of endotoxin-induced lung inflammation / J.H. Williams, S.K. Patel, D. Hatakeyama [et al.] // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* — 1993. — Vol. 8. — P.134—144.
- Gordon, T. Effect of inhaled endotoxin on intraepithelial mucosubstances in F344 rat nasal and tracheobronchial airways / T. Gordon, J.R. Harkema // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* — 1994. — Vol. 10. — P.177—183.
- Dominici, M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller [et al.] // *Cytotherapy*. — 2006. — Vol. 8. — P.315—317.
- Baddoo, M. Characterization of mesenchymal stem cells isolated from murine bone marrow by negative selection / M. Baddoo, K. Hill, R. Wilkinson [et al.] // *J. Cell. Biochem.* — 2003. — Vol. 89. — P.1235—1249.

33. *Ramalho-Santos, M.* «Stemness»: transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells / M. Ramalho-Santos, S. Yoon, Y. Matsuzaki [et al.] // *Science*. — 2002. — Vol. 298. — P.597—600.
34. *Cognet, P.A.* Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells / P.A. Cognet, J.J. Minguell // *J. Cell. Physiol.* — 1999. — Vol. 181. — P.67—73.
35. *Muguruma, Y.* Reconstitution of the functional human hematopoietic microenvironment derived from human mesenchymal stem cells in the murine bone marrow compartment / Y. Muguruma, T. Yahata, H. Miyatake [et al.] // *Blood*. — 2006. — Vol. 107. — P.1878—1887.
36. *Honczarenko, M.* Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors / M. Honczarenko, Y. Le, M. Swierkowski [et al.] // *Stem. Cells*. — 2006. — Vol. 24. — P.1030—1041.
37. *Lapidot, T.* How do stem cells find their way home? / T. Lapidot, A. Dar, O. Kollet // *Blood*. — 2005. — Vol. 106. — P.1901—1910.
38. *Krampera, M.* Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide / M. Krampera, S. Glennie, J. Dyson [et al.] // *Blood*. — 2003. — Vol. 101. — P.3722—3729.
39. *Di Nicola, M.* Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli / M. Di Nicola, C. Carlo-Stella, M. Magni, [et al.] // *Blood*. — 2002. — Vol. 99. — P.3838—3843.
40. *Corcione, A.* Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions / A. Corcione, F. Benvenuto, E. Ferretti [et al.] // *Blood*. — 2006. — Vol. 107. — P.367—372.
41. *Neuringer, I.P.* Lung stem cell update: promise and controversy / I.P. Neuringer, S.H. Randell // *Monaldi Arch. Chest. Dis.* — 2006. — Vol. 65. — P.47—51.
42. *Kotton, D.N.* Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium / D.N. Kotton, B.Y. Ma, W.V. Cardoso [et al.] // *Development*. — 2001. — Vol. 128. — P.5181—5188.
43. *Kotton, D.N.* Failure of bone marrow to reconstitute lung epithelium / D.N. Kotton, A.J. Fabian, R.C. Mulligan // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* — 2005. — Vol. 33. — P.328—334.
44. *Zhen, G.* Mesenchymal stem cell transplantation increases expression of vascular endothelial growth factor in papain-induced emphysematous lungs and inhibits apoptosis of lung cells / G. Zhen, Z. Xue, J. Zhao [et al.] // *Cytotherapy*. — 2010. — Vol. 12, № 5. — P.605—614.
45. *Rojas, M.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung / M. Rojas, J. Xu, C.R. Woods [et al.] // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* — 2005. — Vol. 33. — P.145—152.
46. *Gupta, N.* Intrapulmonary delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves survival and attenuates endotoxin-induced acute lung injury in mice / N. Gupta, X. Su, B. Popov [et al.] // *J. Immunol.* — 2007. — Vol. 179. — P.1855—1863.
47. *Németh, K.* Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production / K. Németh, A. Leelahavanichkul, P.S. Yuen [et al.] // *Nat. Med.* — 2009. — Vol. 15, № 1. — P.42—49 [Erratum in *Nat. Med.* — 2009. — Vol. 15, № 4. — P.462].
48. *van Haaften, T.* Airway delivery of mesenchymal stem cells prevents arrested alveolar growth in neonatal lung injury in rats / T. van Haaften, R. Byrne, S. Bonnet [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* — 2009. — Vol. 180. — P.1131—1142.
49. *Aslam, M.* Bone marrow stromal cells attenuate lung injury in a murine model of neonatal chronic lung disease / M. Aslam, R. Baveja, O.D. Liang [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* — 2009. — Vol. 180. — P.1122—1130.
50. *Lee, J.W.* Allogeneic human mesenchymal stem cells for treatment of E. coli endotoxin-induced acute lung injury in the ex vivo perfused human lung / J.W. Lee, X. Fang, N. Gupta [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2009. — Vol. 106. — P.16357—16362.