

Применение мезенхимальных стволовых клеток способствует уменьшению степени ишемически-реперфузионного поражения различных органов в эксперименте: акцент на паракринные механизмы

**М.Ш. Хубутия¹, А.В. Вагабов¹, А.А. Темнов¹, В.Ю. Абрамов¹, В.И. Новоселов²,
А.Н. Склифас², Н.И. Кукушкин²**

¹ НИИ Скорой Помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗ, Москва

² Институт Биофизики Клетки РАН, Пущино

Using of mesenchymal stem cells reduces the level of ischemia-reperfusion injury of various organs in experiments: focus on paracrine mechanisms

**M.Sh. Khubutiya¹, A.V. Vagabov¹, A.A. Temnov¹, V.Yu. Abramov¹, V.I. Novoselov²,
A.N. Sklifas², N.I. Kukushkin²**

¹ Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow

² Institute of Cell Biophysics RAS, Pushchino

Ключевые слова: ишемически-реперфузионное повреждение, мезенхимальные стволовые клетки, цитокины, воспаление, факторы роста

Сегодня такие состояния, как острый инфаркт миокарда, ишемический инсульт, шоковое поражение органов являются ведущими причинами смерти в мире. Все данные состояния сопровождаются синдромом ишемически-реперфузионного повреждения – парадоксального процесса, при котором повреждение клеток ишемизированного органа продолжается после восстановления перфузии. Патогенез ишемически-реперфузионного повреждения весьма сложен и включает в себя сочетания таких процессов, как воспаление, метаболический дисбаланс, оксидативный стресс и т.д. Существующая сегодня терапия данных состояний является недостаточной, что дает основания искать альтернативные подходы в лечении ишемически-реперфузионного повреждения. Многие исследования демонстрируют эффективность использования мезенхимальных стволовых клеток как одного из методов терапии ишемически-реперфузионного повреждения. Особая роль в этом эффекте, по-видимому, принадлежит паракринным факторам. В данном обзоре мы рассматриваем множество работ по данной тематике и пытаемся обозначить основные патогенетические точки приложения мезенхимальных стволовых клеток при ишемически-реперфузионном повреждении.

Today, conditions such as acute myocardial infarction, ischemic stroke, shock organ injury are the leading causes of death in the world. All these states are accompanied by a syndrome of ischemia-reperfusion injury – paradoxical process when cells damage in the ischemic organ is continued after blood flow recovery. Pathogenesis of ischemia-reperfusion injury is very complex and involves a combination of processes such as inflammation, metabolic imbalance, oxidative stress, etc. The existing treatment of these conditions is insufficient. Therefore, there is a reason to look for alternative approaches for the

Адрес для переписки: Темнов Андрей Александрович

Лаборатория клеточных и физико-химических медицинских технологий

НИИ Скорой Помощи им. Н.В. Склифосовского

Телефон: +7 (495) 625-19-65 *E-mail:* aa-temnov@yandex.ru

treatment of ischemia-reperfusion injury. Many studies have demonstrated the effect of mesenchymal stem cells in the ischemia-reperfusion injury of different organs. It seems that their special role in this effect is caused by paracrine factors. In this review, we discuss a number of studies in this field, and try to identify the major pathogenic point of application of mesenchymal stem cells in ischemia-reperfusion injury.

Keywords: ischemia-reperfusion injury, mesenchymal stem cells, cytokines, inflammation, growth factors

Введение

Ишемически-реперфузионное повреждение (И-РП) представляет собой патологический процесс, при котором повреждение клеток ишемизированного органа усиливается после восстановления в нем кровотока [20, 21, 45].

В работе Girn H.R. [16] было дано следующее определение И-РП: «Это парадоксальный и сложный процесс, возникающий после восстановления кровотока в ранее ишемизированной ткани, приводящий к возрастанию клеточной дисфункции и клеточной гибели».

Такие патологии как острый инфаркт миокарда, острая почечная недостаточность, ишемический инсульт, шоковое поражение органов стоят на ведущих местах среди состояний, приводящих к летальному исходу, и сопровождаются И-РП.

У субоптимальных доноров И-РП является основной причиной первичной дисфункции трансплантата [39]. Дефицит органов для трансплантации заставляет многие медицинские центры расширять критерии отбора и проводить их изъятие у субоптимальных доноров, органы которых обладают низкой толерантностью к И-РП [7]. Таким образом, при трансплантации И-РП является одним из важнейших факторов, приводящих к дисфункции органа.

Существующие схемы лечения И-РП недостаточно эффективны, чем объясняются все новые попытки найти альтернативные подходы к терапии И-РП. На сегодняшний день одним из привлекательных возможных методов лечения ишемически-реперфузионных является применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Однако сначала хотелось бы кратко рассмотреть основные этапы патогенеза ишемически-реперфузионного повреждения.

Патогенез ишемически-реперфузионного повреждения

Процессы, лежащие в основе реперфузионного синдрома, можно кратко обозначить следующим образом:

1. Метаболический дисбаланс, сопровождающийся повреждением митохондрий и нарушением гомеостаза Ca^{2+}
2. Повышение продукции активных форм кислорода (АФК) и азотсодержащих соединений (NO)
3. Нарушение микроциркуляции

4. Активация клеток иммунной системы с выделением провоспалительных и проапоптотических факторов.

Воспалительные изменения, заключающиеся в повышенной секреции ишемизированной тканью провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- α , ИЛ-1, 6, 8 и др., а также активации компонентов комплемента (C5a), что приводит к развитию воспаления и миграции в область повреждения клеток лейкоцитарного ряда, в первую очередь, нейтрофилов [23]. Нейтрофилы активируют молекулы адгезии и взаимодействуют с эндотелием по так называемому механизму «роллинга-адгезии с последующим диапедезом» («rolling-adhesion diapedesis») [4], что, в сочетании с увеличением жесткости их мембраны и снижением способности к деформации, приводит к нарушению тока крови по капиллярному руслу и пролонгации ишемии в острой стадии реперфузии (*no-flow phenomena*) [13]. Из провоспалительных цитокинов особенно хотелось бы обратить внимание на ФНО- α , так как было показано, что ФНО- α , независимо от нейтрофилов, способен вызывать дисфункцию эндотелия микрососудов сердца [15]. Кроме того, воздействие анти-ФНО-антителами приводит к значительному уменьшению дисфункции эндотелия коронарных артерий и зоны инфаркта [23]. Также не раз отмечалась прямая зависимость между уровнем экспрессии ФНО- α и дисфункцией эндотелия при реперфузионном повреждении [54].

Высвобождение активных форм кислорода и свободных радикалов (в частности, за счет усиления перекисного окисления липидов), в свою очередь, приводит к повышению в крови уровня трансаминаз, увеличению воспалительного инфильтрата, фрагментации хроматина и развитию апоптоза [8].

Метаболические нарушения связаны с избыточным поступлением к поврежденным и некротическим тканям электролитов и продуктов синтеза макроэргов. Альтерированные ткани неспособны должным образом метаболизировать весь поступающий к ним субстрат, что приводит к нарушению возбудимости клеток, активации цикло- и липооксигеназы с дальнейшим формированием простагландинов и лейкотриенов, активации анаэробного метаболизма (что усугубляет метаболический ацидоз) и др. [43].

Вышеописанные изменения приводят к выраженной альтерации, апоптозу и некрозу клеток в период острой реперфузии.

Это лишь небольшая часть изменений, происходящих в тканях в результате И-РП, однако новые подходы к терапии данных патологических состояний должны учитывать все аспекты их сложного патогенеза.

Основываясь на знании патогенеза, можно выделить три основных направления в борьбе за снижение уровня И-РП:

- Ингибирование апоптоза и снижение уровня воспалительной реакции
- Использование антиоксидантов для снижения уровня окислительного стресса в тканях трансплантата
- Снижение уровня метаболизма тканей трансплантата при ишемии

Существует достаточное количество работ, указывающих на эффективность применения МСК в лечении состояний, сопровождающихся ишемически-реперфузионным синдромом, однако механизм действия до сих пор остается недостаточно ясным и дискуссионным. Сложилось две основных гипотезы. Сторонники первой из них полагают, что положительный эффект основывается на способности МСК трансдифференцироваться в клетки окружающей ткани, таким образом способствуя регенерации поврежденного органа, восстановлению его структуры и функций [33-35, 42, 47]. Другая гипотеза, более новая, рассматривает как основной механизм положительного эффекта МСК выделение ими паракринных факторов, к которым, в первую очередь, относятся цитокины различных групп (ростовые факторы, противовоспалительные цитокины, хемокины и др.) [29, 32, 53]. Последняя гипотеза сегодня приобретает все большую популярность среди ученых разных стран, однако весьма вероятно, что оба механизма в большей или меньшей степени обуславливают положительный эффект МСК, и говорить о ведущем механизме, по-видимому, возможно, лишь тщательно рассматривая каждый случай в отдельности.

Далее хотелось бы рассмотреть наиболее интересные работы, посвященные использованию МСК для лечения ишемически-реперфузионного повреждения различных органов и тканей.

Применение МСК при И-РП почек

И-РП почек – наиболее частая причина, приводящая к острой почечной недостаточности, как для нативной почки, так и при трансплантации органа [27]. Положительный эффект от использования МСК при острой почечной недостаточности (в частности цисплатин-индуцированной) неоднократно был продемонстрирован учеными разных стран как на модели *in vivo*, так и *in vitro*. При этом наблюдалась значительное повышение жизнеспособности клеток *in vitro* [5], уменьшался уровень апоптоза [12], в экспериментах *in vivo* выживаемость особей увели-

чивалась до 80% по сравнению с контролем [1, 32], а функция поврежденных органов в значительной степени сохранялась [31, 32, 52].

Весьма интересны, но, к сожалению, не столь многочисленны работы, в которых описывается терапевтический эффект МСК при моделировании почечной недостаточности, вызванной именно И-РП.

Yen-Ta с соавторами смоделировали И-РП почек у крыс, клампировав ножки почечных артерий (с обеих сторон) в течение 1 часа [53]. Далее опытной группе были введены МСК, полученные из жировой ткани (ADMSC), контрольной группе – интактная культуральная среда. Были исследованы показатели мочевины и креатинина в разные промежутки времени после восстановления кровотока. Отмечалось значительное повышение уровня обоих показателей в контрольной группе по сравнению с опытной (хотя значения в опытной группе также на порядок превышали нормальные) [53].

Гистологические исследования также выявили значительно большее повреждение почечной ткани в контрольной группе по сравнению с опытной, что выражалось в обширных зонах тубулярного некроза, дилатации клубочков, потере щеточной каемки и т.д. Кроме того, с помощью РТ-ПЦР было проведено изучение экспрессии мРНК эндотелина-1 (ET-1), индикатора вазоконстрикции и повреждения эндотелия, ФНО- α и металлопротеазы-9 (ММП-9) – индикаторов воспаления. Значения данных показателей в контрольной группе значительно превышали результаты в опытной, в то время как противовоспалительные маркеры, такие как ИЛ-10, адипонектин, эндотелиальная NO – синтаза (eNOS) были значительно выше в опытной группе по сравнению с контрольной. Помимо вышеперечисленных активных веществ с помощью вестерн-блот анализа была исследована секреция молекул адгезии ICAM-1 и нуклеарный фактор «каппа-би» (NF κ B). Данные маркеры воспаления были также значительно снижены в опыте по сравнению с контролем. Кроме того, исследовалась экспрессия показателей апоптоза и оксидативного стресса. Так, в опытной группе был значительно снижен индикатор апоптоза – каспаза-3, в то время как антиапоптотический индикатор, Bcl-2, был повышен по сравнению с контрольной группой. Из антиоксидантных биомаркеров были изучены экспрессии NQO-1 (NAD(P)H-хинон оксидоредуктаза), HO-1 (гемоксигеназа), GR (глутатион редуктаза), GPx (глутатион пероксидаза). Экспрессия этих факторов была значительно повышена как в опытной, так и в контрольной группе по сравнению с нормальными показателями, однако в опытной группе повышение было более значительным.

Таким образом, авторы говорят о противовоспалительном, антиоксидантном, антиапоптотическом эффекте при трансплантации ADMSC при ишеми-

чески-реперфузионном повреждении почек, делая акцент на паракринных факторах, выделяемых МСК.

Китайские ученые также показали выраженный положительный эффект при использовании МСК на модели ИР-П почек *in vivo* и *in vitro* [27], однако в своей работе сделали акцент на повышенном выделении ишемизированной тканью (в данном случае почки) хемокина SDF-1 (stromal cell-derived factor-1 или CXCL12). Данный фактор играет важнейшую роль в процессах хемотаксиса и органоспецифического «хоминга» стволовых и прогенераторных клеток в ишемизированную ткань. Связь SDF-1 с МСК осуществляется за счет двух видов рецепторов – CXCR4 и CXCR7. В ходе своей работы исследователи выявили, что экспрессия рецепторов к SDF-1 значительно возрастает при культивировании МСК в условиях гипоксии (ГП-МСК) (3% O₂). По мнению авторов, CXCR4 необходим для миграции МСК к ишемизированной ткани, т.к. при блокировании этого рецептора с помощью моноклональных антител хемотаксис стволовых клеток резко нарушается (хемотаксис был исследован на системе transwell system Millipore Inc.); CXCR7 же необходим для повышения жизнеспособности МСК в ишемизированной ткани. Рассматривая H₂O₂ как один из важнейших медиаторов клеточной гибели при И-РП [41], исследователи обработали этим агентом МСК. Культивированные в условиях гипоксии МСК показали намного более высокую жизнеспособность, чем клетки, культивированные в обычных условиях. При этом при блокировании CXCR7 моноклональными антителами, жизнеспособность клеток, культивированных в условиях гипоксии, практически не отличалась от таковой для клеток, культивированных в стандартных условиях (для получения данных использовались МТТ-тест, окраска клеток пропидиумом йодидом и исследование ЛДГ как показателя повреждения клеточной мембраны) [27]. Также была четко продемонстрирована связь паракринной функции МСК с экспрессией рецепторов CXCR4 и CXCR7 и соответственно с наличием SDF-1. Были исследованы 4 основных прогенераторных фактора, выделяемых МСК: VEGF (вазо-эндотелиальный фактор роста), HGF (фактор роста гепатоцитов), IGF-1 (инсулиноподобный фактор роста-1), b-FGF (фактор роста фибробластов – бета) [5, 29, 30]. С помощью ИФА было показано, что секреция данных факторов роста повышается в условиях гипоксии и/или при добавлении к культуре SDF-1. В то же время, при нейтрализации и CXCR4, и CXCR7 с помощью моноклональных антител секреция всех изучаемых факторов роста резко снижалась, а вместе с этим падал и терапевтический эффект от применения МСК на модели ИР-П почки *in vivo*.

Таким образом, в работе была показана способность МСК посредством экспрессии SDF-1 и соответствующих рецепторов не только хорошо

адаптироваться к условиям гипоксии/ишемии, но и увеличивать свою функциональную активность (в том числе секреторную) при ИР-П.

Американские ученые провели схожее исследование, однако, в отличие от предыдущих работ, использовали некультивированные клетки (ADMSC), только что полученные из жировой ткани крыс, либо клетки после криоконсервации [14]. Введение таких клеток интраартериально в почку, подвергшуюся ИР-П, не только повышало выживаемость подопытных животных и снижало уровень креатинина и мочевины в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой уже в течение первых 24 часов, но и значительно снижало экспрессию провоспалительных цитокинов: ИЛ-6 и МР-2 альфа (макрофагальный воспалительный белок 2 альфа, CXCL2). Кроме того, отмечалось значительное снижение инфильтрации почечной ткани макрофагами (их выявляли по окраске CD68), а также было выявлено повышение маркера клеточной пролиферации Ki-67 в дистальных и проксимальных канальцах почек, при введении ADMSC («свежих» и после криоконсервации) [14].

Учитывая, что вышеописанные изменения были выявлены уже в течение первых суток, а также тот факт, что донорские клетки практически отсутствовали в почечной ткани через 72 часа после введения, авторы склоняются к тому, что в основе положительного эффекта при ишемически-реперфузионном поражении почки лежит действие паракринных факторов, выделяемых ADMSC, а не трансдифференцировка [14].

МСК и ишемически-реперфузионное повреждение миокарда

Острый коронарный синдром представляет собой форму ИБС, являющейся ведущей причиной смерти. Своевременная реперфузия – важнейший этап лечения данной патологии. Однако сама по себе реперфузия сопровождается воспалительными изменениями, оксидативным стрессом, метаболическими нарушениями, что ведет к дальнейшему повреждению миокарда. Неоднократно сообщалось, что введение МСК в миокард значительно снижает ремоделирование зоны инфаркта и улучшает функцию желудочков [10, 48, 49]. Причем было отмечено, что МСК более значительно уменьшают зону инфаркта, повышают пролиферацию клеток и неоваскуляризацию зоны инфаркта, чем гемопоэтические стволовые клетки [3]. Ряд ученых обосновывали положительный эффект МСК их способностью дифференцироваться в кардиомиоциты *in situ* [48, 49], однако этот аспект остается спорным из-за достаточно редкой встречаемости данного феномена [38]. Тем не менее, существует достаточно много работ, придающих основное значение в улучшении функций миокарда паракринным механизмам [3, 6, 17-19, 25, 46].

Так, *Angoulvant D et al.* [2] показали, что кондиционированная среда МСК значительно снижает ИР-П миокарда, как *in vitro* (доказательства получены с помощью МТТ теста и измерения уровня АДГ), так и *in vivo* (измеряли уровень креатин-фосфокиназы и размер зоны инфаркта) [2]. Причем основной механизм положительного эффекта в данной работе приписывается паракринной активации PI3K-зависимого пути.

В 2006 году *Gnecchi et al.* [18] показали, что введение в миокард кондиционированной среды, полученной от МСК с повышенной экспрессией гена Akt, значительно уменьшает зону инфаркта и улучшает функцию левого желудочка (измерялось систолическое давление левого желудочка). В этой же работе *in vitro* было показано, что кондиционированная среда от МСК повышает жизнеспособность кардиомиоцитов, культивированных в условиях пониженного содержания O₂. Это свойство усиливается, если среда была получена от стволовых клеток, культивированных в условиях гипоксии, и еще более увеличивается, если культивировались МСК с повышенной экспрессией гена Akt. Как индикатор апоптоза был исследован уровень каспазы-3, который заметно уменьшался при введении кондиционированной среды от МСК с повышенным уровнем экспрессии Akt и/или культивированных в условиях гипоксии. Наконец, был определен уровень таких паракринных факторов, как VEGF, HGF, IGF-1, bFGF, TMB4, который также был достаточно высок в кондиционированной среде МСК, однако ниже, чем в кондиционированной среде от клеток, культивированных в условиях гипоксии и/или с повышенной экспрессией гена Akt [18].

В другой работе американские ученые показали, что кардиопротективное действие МСК возрастает при нокаутировании гена TLR4 (Toll-подобного рецептора 4) [50]. Известно, что TLR4 экспрессируется МСК [37]. При взаимодействии с медиатором этот рецептор способен индуцировать апоптоз, снижать пролиферативную способность, а дефицит этого рецептора приводит к снижению секреции клетками провоспалительных цитокинов [37, 40]. На изолированном сердце крысы была создана модель И-РП и учтены такие показатели, как систолическое давление, развиваемое левым желудочком (LVDP – left ventricular developed pressure) и конечное диастолическое давление (EDP – end diastolic pressure). При введении в миокард как не измененных по генотипу МСК (WT МСК), так и МСК с нокаутированным геном TLR4 (TLR4KO МСК) наблюдалось значительно менее выраженное падение LVDP по сравнению с контрольной группой, однако TLR4KO МСК показали более выраженный кардиопротективный эффект. В то же время, конечное диастолическое давление во всех трёх группах было примерно одинаково, что говорит об эквивалентном И-РП во всех группах [50].

В этой же работе было показано, что TLR4KO МСК продуцируют больше факторов роста и хемокинов (TIMP-1, KC, M-CSF, JE) и в большей степени усиливают пролиферацию по сравнению с МСК WT [50].

Кроме того, было отмечено, что базовый уровень STAT3 был значительно выше у TLR4KO МСК по сравнению с МСК WT, и при нокауте STAT3 с помощью интерференции РНК, продукция факторов роста и хемокинов TLR4KO МСК значительно понижалась по сравнению с TLR4KO МСК без нокаута STAT3. Кардиопротективный эффект при нокауте STAT3 также снижался. Из вышесказанного было сделано предположение, что повышенная продукция цитокинов и улучшение кардиопротективного эффекта TLR4KO МСК происходит по STAT3-зависимому пути. [50].

Хотелось бы рассмотреть еще одну весьма интересную работу. *Matthew et al.* [46], разработали гель, состоящий из самоорганизующихся нановолокон гликозаминогликанов, конъюгированных с гепарин-связывающим амфифильным белком (НВРА). Такой гель способен сорбировать на себе не только гепарин, но и другие белки, содержащие гепарин-связывающие домены (такие как VEGF и HGF).

Цель данной работы заключалась в том, чтобы при помощи данного геля выделить из кондиционированной среды МСК ростовые факторы и протестировать такой препарат на модели И-РП повреждения (инфаркт миокарда и ишемия задних конечностей) *in vivo*.

В результате исследования было выявлено, что введение геля, пропитанного в кондиционированной среде МСК, в стенку левого желудочка, способствует значительному сохранению функции миокарда (измерялась сократимость левого желудочка, способность к релаксации, среднее систолическое давление) на модели острого инфаркта миокарда у крыс по сравнению с нелеченой контрольной группой, а также по сравнению с введением кондиционированной среды и геля, не пропитанного в кондиционированной среде, по отдельности [51]. Причем наиболее выраженный эффект получали при пропитывании геля кондиционированной средой от клеток, культивированных в условиях гипоксии (5% O₂). На модели ишемии задних конечностей были получены аналогичные результаты (в данном случае оценивался ангиогенез с помощью ангиографии) [51].

МСК и ишемически-реперфузионное поражение других органов

Были также попытки использования мезенхимальных стволовых клеток при моделировании И-РП других органов. Так, *Kanazawa H et al.* на модели ишемически-реперфузионного повреждения

печени у крыс показали, что трансплантация МСК сразу после восстановления перфузии значительно снижает уровень печеночных трансаминаз, уровень апоптоза (апоптоз наблюдался в основном в центральнобулярной области) и повышает регенерацию печени [24]. Авторы окрасили МСК с помощью X-gal и обнаружили, что большая часть введенных МСК находится в перипортальной области и лишь незначительная часть клеток была обнаружена в центральнобулярной области. Таким образом, зона миграции клеток и зона апоптоза не совпадают, что говорит о том, что трансплантированные клетки не замещали поврежденные гепатоциты, и антиапоптотический эффект, вероятно, обусловлен паракринными механизмами. Кроме того, с помощью In Vivo Imaging System IVISTM (Xenogen, Allameda, CA) была определена люциферазная активность клеток, которая значительно падала с истечением времени и практически не отмечалась через 168 часов.

Надо отметить, что и LacZ+ МСК (клетки, окрашенные X-gal) также не были обнаружены в печени через 168 часов после начала перфузии.

Учитывая вышеприведенные данные, а также значительное снижение печеночных трансаминаз уже в первые 24 часа после введения МСК (что явно недостаточно для их трансдифференцировки в гепатоциты), авторы отводят основную роль в положительном эффекте от применения МСК паракринным механизмам [24].

Применение МСК для лечения ишемически-реперфузионного поражения легких также рассматривалось в ряде работ [9, 28, 44, 53]. *Sun SK et al.* на модели ИР-П легкого у крыс продемонстрировали, что введение МСК, полученных из жировой ткани, заметно повышает уровень сатурации в крови O_2 и снижает систолическое давление в правом желудочке уже через 72 часа после начала реперфузии по сравнению с контрольной группой, что говорит о сохранении функции легкого. Также ученые обнаружили значительное повышение уровня экспрессии и секреции провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ММП-9, NF κ B, VCAM-1, ICAM-1), проапоптотических факторов (каспаза-3, Вах) и эндотелина-1 в контрольной группе по сравнению с опытом, в то время как в опытной группе, наоборот, наблюдалась значительно большая экспрессия противовоспалительных (адипонектин, синтетаза эндотелиального оксида азота, ИЛ-10), антиапоптотических (Bcl-2) и антиоксидантных факторов (гемоксигеназа, NAD(P)H, глутатион-редуктаза, NAD(P)H-хинон оксидредуктаза). Кроме того, в опытной группе были обнаружены факторы активного ангиогенеза (повышенная экспрессия фактора Виллебранда и CD31+-индикаторов фенотипа эндотелия в легочной паренхиме) [44].

Chen S et al. получили аналогичные результаты в своей работе, но использовали мезенхимальные

стволовые клетки, полученные из костного мозга, а не из жировой ткани [9].

В другой работе ученые из США внедрили в МСК, полученные из костного мозга, ген вирусного ИЛ-10 и использовали такие клетки для лечения ИР-П легкого *in vivo*. В результате ученые выявили выраженное улучшение функционального и структурного состояния легких в опытной группе как по сравнению с нелеченым контролем, так и по сравнению с введением неизмененных МСК. Показатели воспаления и апоптоза также были значительно снижены в опытной группе [28].

Заключение

Появляются исследования, сообщающие, что применение МСК также будет давать положительный эффект в отношении ишемически-реперфузионного поражения таких органов как кишечник [22], сетчатка [36], мозг [11], конечности [26], однако таких работ пока не так много. Тем не менее, становится очевидно, что использование мезенхимальных стволовых клеток является привлекательным и перспективным методом лечения ишемически-реперфузионного повреждения различных органов, и хотя механизм действия МСК все еще не до конца понятен и спорен, есть все основания полагать, что факторы, выделяемые стволовыми клетками играют важную роль в наблюдаемом протективном эффекте. Кроме того, посредством создания специфических условий культивирования МСК, по-видимому, появляется возможность регулировать их протективные свойства, что, вероятно, значительно увеличит предсказуемость эффекта от введения МСК и даст возможность коррекции этого эффекта в зависимости от каждой конкретной ситуации, что весьма соответствует понятию «персонализированной медицины», к которому сегодня стремятся медицинские и научные сообщества всего мира.

Авторы не имеют конкурирующих интересов.

Литература

1. *Хубутия М.Ш., Темнов А.А., Вагабов А.В. и соавт.* Низкомолекулярные пептидные препараты, полученные из культивированных стволовых клеток, при лечении острой почечной недостаточности // Трансплантология. 2011. №4. С. 20-25.
2. *Angoulvant D, Ivanov F, Ferrera R, et al.* Mesenchymal stem cell conditioned media attenuates in vitro and ex vivo myocardial reperfusion injury // The Journal of Heart and Lung Transplantation. 2011. Vol. 30(1). P. 95–102.
3. *Armijań A, Gandia C, Garcia-Verdugo JM, et al.* Mesenchymal stem cells provide better results than hematopoietic precursors for the treatment of myocardial infarction // J Am Coll Cardiol. 2010. Vol. 55. P. 2244–2253.
4. *Arslan F, de Kleijn DP, Timmers L, et al.* Bridging innate im-

- munity and myocardial ischemia/reperfusion injury: the search for therapeutic targets // *Curr Pharm Des*. 2008. Vol. 14. P. 205–1216.
5. *Bi B, Schmitt R, Israilova M, et al.* Stromal Cells Protect against Acute Tubular Injury *via* an Endocrine Effect // *J Am Soc Nephrol*. 2007. Vol. 18. P. 2486–2496.
 6. *Boyle AJ, McNiece IK, Hare JM.* Mesenchymal stem cell therapy for cardiac repair // *Methods Mol Biol*. 2010. Vol. 660. P. 65–84.
 7. *Busuttill RW, Tanaka K.* The utility of marginal donors in liver transplantation *Liver Transplantation* // 2003. Vol. 9(7). P. 651–663.
 8. *Chang E.L., Lee S.H., Mun K.C, et al.* Effect of artificial cells on hepatic function after ischemia-reperfusion injury in liver // *Transplant. Proc*. 2004. Vol. 36(7). P. 1959–1961.
 9. *Chen S, Chen L, Wu X, et al.* Ischemia postconditioning and mesenchymal stem cells engraftment synergistically attenuate ischemia reperfusion-induced lung injury in rats // *Journal of Surgical Research*. 2012. Vol. 178(1). P. 81–91.
 10. *Davani, S., Marandin, A., Mersin, N., et al.* Mesenchymal progenitor cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a rat cellular cardiomyoplasty model // *Circulation*. 2003. Vol. 108. Suppl. 1. II253–II258.
 11. *Dharmasaroja P.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells for the treatment of ischemic stroke // *Journal of Clinical Neuroscience*. 2009. Vol. 16. P. 12–20.
 12. *Eliopoulos N, Zhao J, Bouchentouf M, et al.* Human marrow-derived mesenchymal stromal cells decrease cisplatin renotoxicity *in vitro* and *in vivo* and enhance survival of mice post-intra-peritoneal injection // *AJP – Renal Physiol*. 2010. Vol. 299(6). F1288–F1298.
 13. *Engler RL, Dahlgren MD, Peterson MA, et al.* Accumulation of polymorphonuclear leukocytes during 3-h experimental myocardial ischemia // *Am J Physiol*. 1986. Vol. 251. H93–H100.
 14. *Feng Z, Ting J, Alfonso Z, et al.* Fresh and cryopreserved, uncultured adipose tissue-derived stem and regenerative cells ameliorate ischemia-reperfusion-induced acute kidney injury // *Nephrol Dial Transplant*. 2010. Vol. 25. P. 3874 – 3884.
 15. *Gao X, Zhang H, Belmadani S et al.* Role of TNF-alpha-induced reactive oxygen species in endothelial dysfunction during reperfusion injury // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008. Vol. 295. H2242–H2249.
 16. *Girn HR, Abilathirunayagam S, Mavor AI et al.* Reperfusion syndrome: cellular mechanisms of microvascular dysfunction and potential therapeutic strategies // *Vasc Endovascular Surg*. 2007. Vol. 41(4). P. 277–93.
 17. *Gnecchi M, He H, Liang OD, et al.* Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells // *Nat Med*. 2005. Vol. 11. P. 367–368.
 18. *Gnecchi M, He H, Noisieux N, et al.* Evidence supporting paracrine hypothesis for Aktmodified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement // *The FASEB Journal*. 2006. Vol. 20. P. 661–669.
 19. *Haider H, Ashraf M.* Bone marrow stem cell transplantation for cardiac repair // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005. Vol. 288. H2557–2567.
 20. *Jaeschke H.* Mechanisms of reperfusion injury after warm ischemia of the liver // *Journal of Hepatobiliary & Pancreatic Surgery*. 1998. Vol. 5(4). P. 402–408.
 21. *Jaeschke H.* Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning // *American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2003. Vol. 284(1). G15–G26.
 22. *Jiang H, Qu L, Li Y, et al.* Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Reduce Intestinal Ischemia/Reperfusion Injuries in Rats // *J Surg Res*. 2009. Vol. 168(1). P. 127–134.
 23. *Junxi Wu, Jun Li, Nannan Zhang, et al.* Stem cell-based therapies in ischemic heart diseases: a focus on aspects of microcirculation and inflammation // *Basic Research in Cardiology*. 2011. Vol. 106(3). P. 317–324.
 24. *Kanazawa H, Fujimoto Y, Teratani T, et al.* Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Hepatic Ischemia Reperfusion Injury in a Rat Model // *PLoS One*. 2011. Vol. 6(4). e19195.
 25. *Kudo M, Wang Y, Wani MA, et al.* Implantation of bone marrow stem cells reduces the infarction and fibrosis in ischemic mouse heart // *J Mol Cell Cardiol*. 2003. Vol. 35. P. 1113–1119.
 26. *Li Q, Yao D, Ma J, et al.* Transplantation of MSCs in Combination with Netrin-1 Improves Neoangiogenesis in a Rat Model of Hind Limb Ischemia // *Journal of Surgical Research*. 2011. Vol. 166(1). P. 162–169.
 27. *Liu H, Liu S, Li Y, et al.* The Role of SDF-1-CXCR4/CXCR7 Axis in the Therapeutic Effects of Hypoxia-Preconditioned Mesenchymal Stem Cells for Renal Ischemia/Reperfusion Injury // *PLoS One*. 2012. Vol. 7(4). e34608.
 28. *Manning E, Pham S, Li S, et al.* Interleukin-10 delivery via mesenchymal stem cells: a novel gene therapy approach to prevent lung ischemia-reperfusion injury // *Human Gene Therapy*. 2010. Vol. 21(6). P. 713–727.
 29. *Matthew MJ, Han X, Murthy SN, et al.* Capturing the Stem Cell Paracrine Effect Using Heparin-Presenting Nanofibers to Treat Cardiovascular Diseases // *J Tissue Eng Regen Med*. 2010. Vol. 4 (8). P. 600–610.
 30. *Montzka K, Fuhrmann T, Müller-Ehmsen J, et al.* Growth factor and cytokine expression of human mesenchymal stromal cells is not altered in an *in vitro* model of tissue damage // *Cytherapy*. 2010. Vol. 12(7). 870–880.
 31. *Morigi M, Introna M, Imberti B, et al.* Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Accelerate Recovery of Acute Renal Injury and Prolong Survival in Mice // *STEM CELLS*. 2008. Vol. 26(8). P. 2075–2082.
 32. *Morigi M, Rota C, Montemurro T, et al.* Life-Sparing Effect of Human Cord Blood-Mesenchymal Stem Cells in Experimental Acute Kidney Injury // *STEM CELLS*. 2010. Vol. 28(3). P. 513–522.
 33. *Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al.* Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium // *Nature*. 2001. Vol. 410 (6829). P. 701–705.
 34. *Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al.* Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001. Vol. 98(18). P. 10344–9.
 35. *Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al.* Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice // *Ann N Y Acad Sci*. 2001. Vol. 938. P. 221–229.
 36. *Park SS, Caballero S, Bauer G, et al.* Long-Term Effects

of Intravitreal Injection of GMP-Grade Bone-Marrow-Derived CD34+ Cells in NOD-SCID Mice with Acute Ischemia-Reperfusion Injury // *IOVS*. 2012. Vol. 53(2). P. 986-994.

37. *Pevsner-Fischer M, Morad V, Cohen-Sfady M, et al.* Toll-like receptors and their ligands control mesenchymal stem cell functions. *Blood*. 2007. Vol. 109. P. 1422-1432.

38. *Pittenger MF, Martin BJ.* Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics // *Circ. Res.* 2004. Vol. 95. P. 9-20.

39. *Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, et al.* Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation – a multivariate analysis // *Transplantation*. 1993. Vol. 55(4). P. 807-813.

40. *Rolls A, Shechter R, London A, et al.* Toll-like receptors modulate adult hippocampal neurogenesis // *Nat Cell Biol.* 2007. Vol. 9. P. 1081-1088.

41. *Sachse A, Wolf G.* Angiotensin II-induced reactive oxygen species and the kidney // *J Am Soc Nephrol.* 2007. Vol. 18. P. 2439-2446.

42. *Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, et al.* Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects // *Ann Thorac Surg.* 2002. Vol. 73(6). P. 1919-1925.

43. *Sologub T.V., Romantsov M.G., Kremen N.V., et al.* Free radical processes and inflammation (pathogenic, clinical and therapeutic aspects). Manual for physicians. Moscow: Akademiya Estestvoznaniya, 2008. ISBN 978-5-98654-030-6.

44. *Sun CK, Yen CH, Lin YC, et al.* Autologous Transplantation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Markedly Reduced Acute Ischemia-Reperfusion Lung Injury in a Rodent Model // *Journal of Translational Medicine.* 2011. Vol. 9. P. 118.

45. *Teob NC, Farrell GC.* Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection // *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 2003. Vol. (8). P. 891-902.

46. *Togel F, Hu Z, Weiss K, et al.* Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through

differentiation-independent mechanisms // *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005. Vol. 289. F31-42.

47. *Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al.* Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart // *Circulation.* 2002. Vol. 105(1). P. 93-98.

48. *Tomita S, Mickle DA, Weisel RD, et al.* Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2002. Vol. 123. P. 1132-1140.

49. *Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E, et al.* The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2001. Vol. 122. P. 699-705.

50. *Wang Y, Abarbanell AM, Herrmann JL, et al.* TLR4 Inhibits Mesenchymal Stem Cell (MSC) STAT3 Activation and Thereby Exerts Deleterious Effects on MSC-Mediated Cardioprotection // *PLoS One.* 2010. Vol. 5(12). e14206.

51. *Webber MJ, Han X, Murthy SN, et al.* Capturing the Stem Cell Paracrine Effect Using Heparin-Presenting Nanofibers to Treat Cardiovascular Diseases // *J Tissue Eng Regen Med.* 2010. Vol. 4(8). P. 600-610.

52. *Yagi H, Soto-Gutierrez A, Kitagawa Y, et al.* Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells Attenuate Organ Injury Induced by LPS and Burn // *Cell Transplant.* 2010. Vol. 19(6). P. 823 - 830.

53. *Yen-Ta Chen, Cheuk-Kwan Sun, Yu-Chun Lin, et al.* Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Protects Kidneys against Ischemia-Reperfusion Injury through Suppressing Oxidative Stress and Inflammatory Reaction // *Journal of Translational Medicine.* 2011. Vol. 9. P. 51.

54. *Zhang C, Wu J, Xu X, et al.* Direct relationship between levels of TNF-alpha expression and endothelial dysfunction in reperfusion injury // *Basic Res Cardiol.* 2010. Vol. 105. P. 453-464.

Дата получения статьи: 18.06.14

Дата принятия к печати: 13.11.14