

## **Проект: Программа и план**

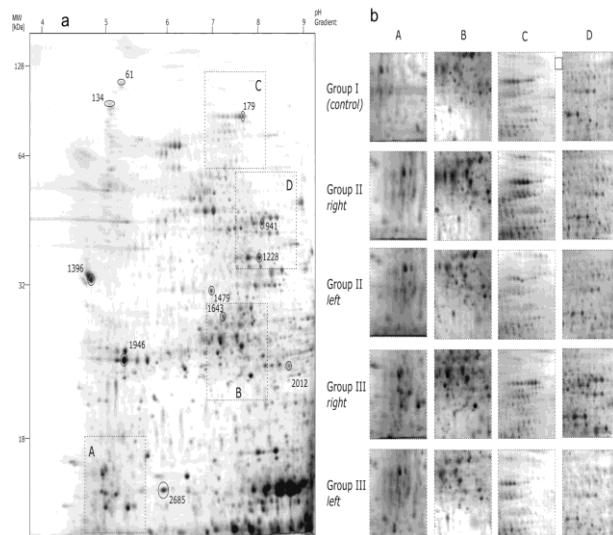
### **Название проекта**

**Исследование молекулярных механизмов и основных путей подхода регенеративной медицины к тканево-инженерной и клеточной терапии дыхательных путей и легких**

### **Определение проблем.**

Легочные заболевания являются основными причинами заболеваемости и смертности во всем мире, так как около 50 миллионов людей во всем мире живут с последней стадией заболеваний легких. В 2020, из 68 миллионов смертей *во всем мире*, 11.9 миллиона будут вызваны *заболеваниями легких*.

Несмотря на некоторые усовершенствования лечения симптомов, аллогенная трансплантация (Тх) остается единственным терапевтическим выбором, приводящем к излечению. К сожалению, существует продолжающаяся нехватка донорских органов, и долгосрочный результат пациентов с Тх-легкого все еще связан с высокой степенью осложнений из-за хронического или острого отторжения и отрицательных побочных эффектов иммуносупрессивной терапии. Кроме этого стоимость системы здравоохранения и необходимых ресурсов огромны. Парадигма трансплантации нуждается таким образом в изменении, и необходимы новые терапевтические варианты. Наши недавние результаты предполагают, чтобы легкие человека были действительно восстановлены или регенерированы за пределами клеточного уровня посредством клеточной терапии<sup>1</sup>. Применение мезенхимальной стволовой клетки (MSC), приводит к существенному влиянию и на клинические параметры и на регенерацию ткани легкого в легочной модели гипертонии посредством нескольких паракринных эффектов и изменения протеиновой экспрессии в ткани легкого (рисунок 1, 2):



**Рис 1 a. Proteomic approach** Representative NEPHGE 2-D-SDS PAGE of proteins from *right lung* of Chronic Thrombembolic Pulmonary Hypertension (CTEPH)-induced and MSC-treated rats. Over all approximately 2000 most abundant proteins were detected after silver staining. Circles represent affected proteins singular detected for group III, identified by MS. Main variant regions in between different groups are assigned as dashed rectangles. **b Quantitative Analysis** Comparison of main variant regions (A-D) detected and analyzed in NEPHGE 2-D-SDS PAGE using Melanie 7.0. *Group I*: both lungs (matched protein profile) from thoracotomy-only-received animals; *Group II*: left and right lungs from left pulmonary artery legated with sham-treatment; *Group III*: left and right lungs from left pulmonary artery legated and MSC-treated animals.

Spot	Swiss-Prot	Proteine	Mr	pI	Score	Sequence	Figure 2: Highly expressed proteins of <i>right lungs</i> from left pulmonary artery legated and MSC treated animals (Group III) compared to other groups,
61	UPI000157F7A1	unnamed protein	216,384	5.68	170	24	
134	P02563	Myosin-6, Myosin	223,371	5.58	230	26	
179	Q9ER34	Aconitate	85,421	7.87	333	42	
941	P09605	Creatine kinase S-	47,355	8.76	221	56	
1228	P04797	Glyceraldehyde-3-	35,805	8.14	117	41	
1369	Q91XN6	Tropomyosin	32,836	4.77	233	63	
1479	P13803	Electron transfer	34,929	8.62	160	45	
1643	P15999	ATP synthase	55,247	8.28	148	32	
		ATP synthase,	59,717	9.22	139	29	
1946	P16409	Myosin light chain	22,142	5.03	142	67	
2012	UPI0001551E7C	Albumin, isoform	51,521	6.72	106	27	
2685	P07483	Fatty acid-binding	14,879	5.90	145	22	

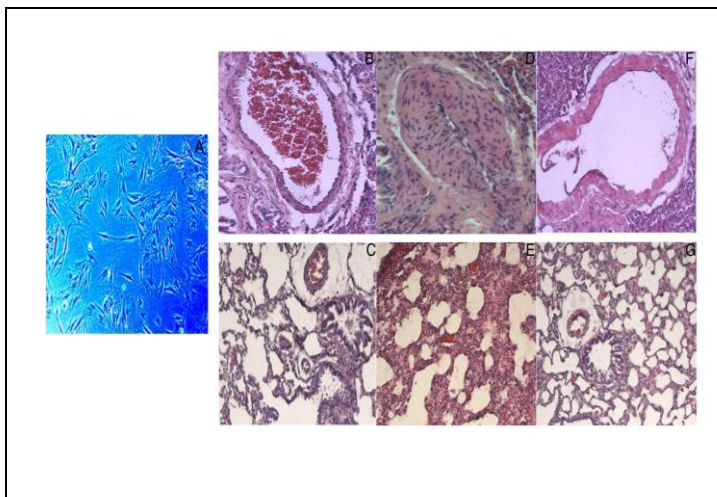
	identified in 2D-SDS-PAGE by MS.
--	----------------------------------

Существует единственная необходимость исследовать реальное воздействие нелегочно-специфичных протеинов на течение легочной гипертензии и улучшение состояния человека. В настоящее время у нас есть определенная гипотеза для объяснения: возможно, что неспецифичные протеины выделяются введенными MSCs, стимулированными систематически активными веществами/цитокинами, высвобожденными вызванным давлением повреждением ткани в других органах за исключением легких. Эти протеины могли бы иметь положительное влияние на эти нелегочные органы, попав в большой круг кровообращения.

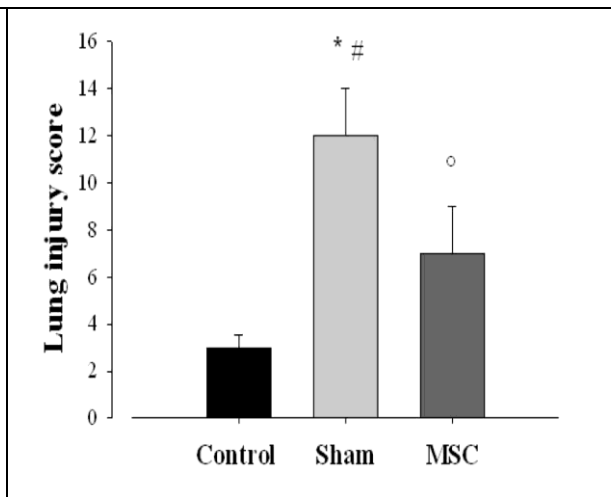
Другая гипотеза состоит в том, что обнаруженные протеины высвобождаются из своей специфичной ткани и попадают в большой круг кровообращения и оказываются в легком под высоким давлением из-за неизвестных возвратных механизмов. И наконец, мы выдвигаем гипотезу, что протеин также выводится из введенных MSC, благодаря неправильному дифференцированию клеток, но какого-либо усиления прогрессирования легочной гипертензии. Тогда следует обсудить, необходимы ли определенные факторы роста, когда введение к дифференциации в оптимальном направлении. Всё необходимо изучить как *in vitro*, так и *in vivo*.

Результаты гистологические показали регенерацию ранее произошедших патологических изменений в паренхиме легкого. Это показывает, что степень воспалительной реакции может быть уменьшена введением мезенхимальной<sup>1</sup>. Несколько групп показали иммуномодуляторные характеристики такого типа клетки, такие как экспрессия противовоспалительных медиаторов таких как интерлейкин -10,-13,-1a, ангиопоэтин-1, факторы роста кератиноцитов или даже ингибирование производства провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа, макрофаг-воспалительного протеина 2 и

многих других<sup>2-4</sup>. Мы показали, противовоспалительный эффект введенных MSC косвенно, существенным улучшением повреждения легкого<sup>1</sup>. Однако, есть огромный потенциал этих клеток с точки зрения иммуномодуляторных способностей, который необходимо исследовать, и это будет одной из целей этого проекта.



**Figure 3: Histological evidence of MSCs' effect:** **A.** Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) with spindled, fibroblast appearance in MesenPro culture. Scale bar: 200  $\mu\text{m}$ . **B, C** (group I) H&E staining of healthy lung parenchyma; Scale bar (B): 200  $\mu\text{m}$ , Scale bar (C): 100  $\mu\text{m}$ . **D, E** (group II) showed CTEPH pulmonary vasculopathic abnormalities and broncho-pulmonary artery hypertrophy (1) and inflammatory signs such as hemorrhage, edema and granulocytes migration (2); Scale bar (D): 200  $\mu\text{m}$ , Scale bar (E): 100  $\mu\text{m}$ . **F, G** H&E staining of lung sections demonstrated improved lung injury in animals given MSCs; reduction in the degree of hemorrhage, edema, granulocytes migration and vascular remodeling. Scale bar (F): 200  $\mu\text{m}$ , Scale bar (G): 100  $\mu\text{m}$ .



**Figure 4: Lung injury score:** Lung injury score according to alveolar congestion, hemorrhage, infiltration or aggregation of neutrophils in airspace or vessel wall, and thickness of alveolar wall/hyaline membrane formation. Score ranges from a maximum of 16 (maximal damage) to a minimum of 0 (minimal damage). \*  $p < 0.01$  vs. Control; #  $p < 0.025$  vs. MSC.

Больше всего, мы обнаружили примененные клетки только в легких под высоким давлением. Один основной механизм этого клеточного хоуминга к

поврежденной ткани - наиболее вероятно связан с осью - стромальный фактором- 1 (SDF-1)/С-Х-С хемокиновый рецептор 4 (CXCR4), но вероятно также связан и с другими до сих пор неизвестными направлениями.

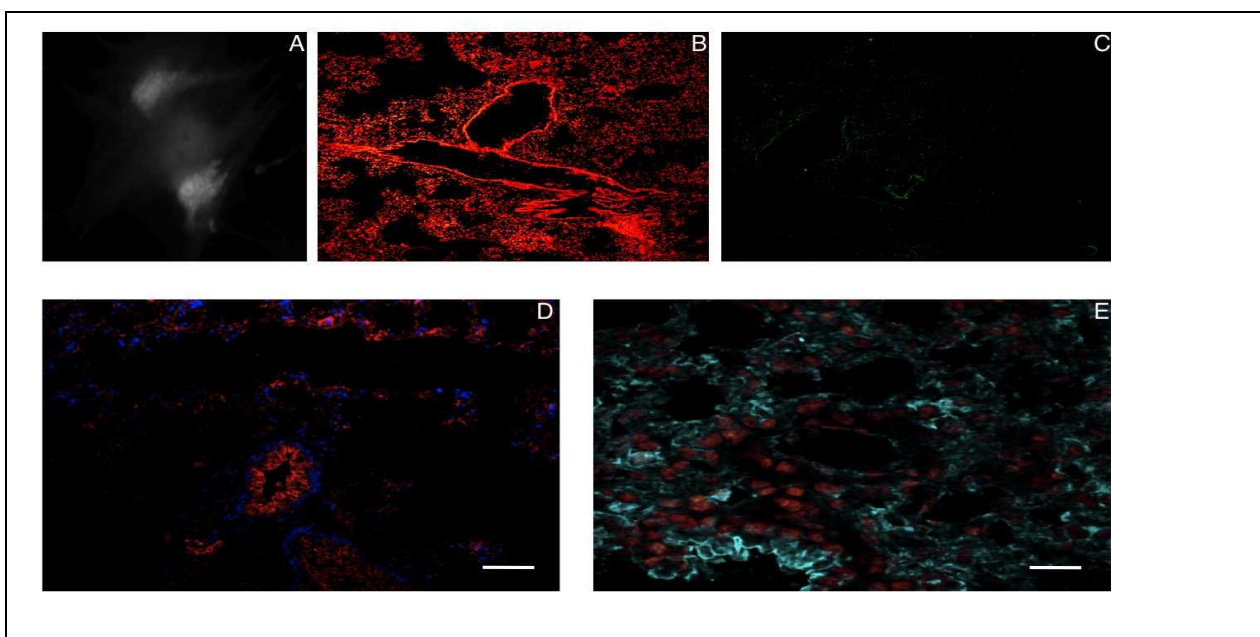


Figure 5: **Recruitment of MSCs via SDF-1:** MSCs were incubated with Cell-carboxy-fluorescein succinimidyl ester (CFSE) and intratracheal administrated. MSCs were only detected by confocal microscopy in non-ligated right lung, primarily at the lung parenchyma; Scale bar: 400  $\mu\text{m}$  (A), and via fluorescence microscopy bromodeoxyuridine-labeled (B) MSCs (Alexa-488, green) only detected in right lung next to resident cells (red) (C); Scale bars: 100 $\mu\text{m}$ . (D) right lung stained for anti-SDF-1 (stained red), nuclei (stained blue) were counterstained with TOPRO3, fluorescence microscopy view (Scale bar:100  $\mu\text{m}$ ). E confocal microscopy view, Nuclei (blue) and anti-SDF-1 (green) (Scale bar: 200  $\mu\text{m}$ ).

Даже при том, что эти начальные результаты являются очень многообещающими, основные механизмы должны быть исследованы более точно до передачи в клинику. Было показано, что уровень клеточного приживления очень низок, и воздействие, главным образом, связано с паракриновой способностью введенных клеток <sup>5</sup>. Следует оценить новые методы усиления клеточного приживления и, таким образом, эффекта примененных клеток. Это могло бы улучшить регенеративные процессы в ткани легкого. Кроме того жизнеспособность клеток должна быть увеличена определенными методами.

Другим потенциальным подходом для замещения больной ткани легкого является метод тканевой инженерии.

Достижение нашей группы в тканево-инженерной трансплантации дыхательных путей, с применением бесклеточной пересадки ткани, засеянной аутогенными стволовыми и респираторными клетками, подтверждают клинический потенциал тканевой инженерии.<sup>6-9</sup>

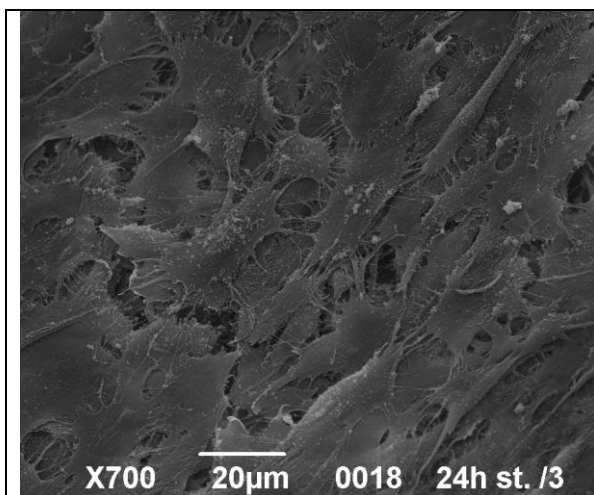


Figure 6: SEM of seeded trachea graft

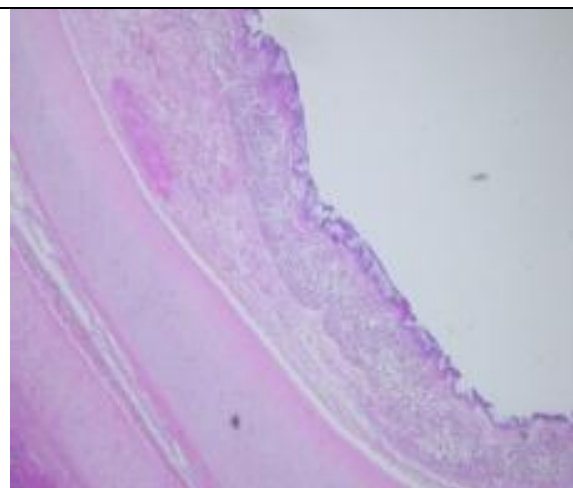
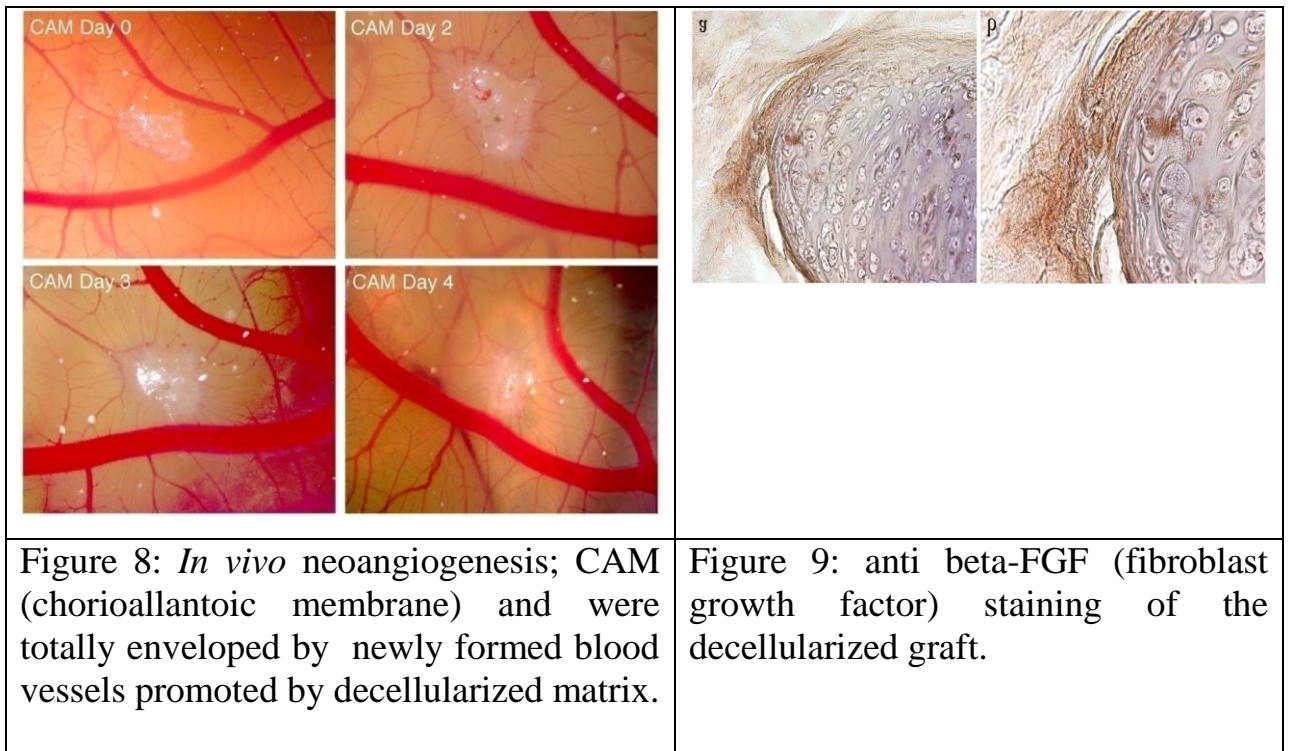


Figure 7: Histological View on engineered trachea, Cytokeratine 5,8 and Collagen II stained

Следствия использования полимеров, и естественных материалов, таких как коллаген или Мэтригель демонстрируют важность сохранения роли внеклеточного матрикса (ECM).<sup>10</sup>. ECM не только определяет архитектуру легкого и содержит физические свойства, но также и влияет на направление клеточной дифференциации легких.

Самым важным для успеха инженерии органов и ткани является достаточная васкуляризация трансплантата. Мы определили про-ангиогенные факторы внутри нашего децеллюларизованного матрикса (такие как фактор роста бета-фибробласта; FGF) и показали способность каркаса способствовать формированию сосудов *in vitro*.





Ott H.C. и Petersen T.H. подтвердили экспериментально наш подход даже для более высокой степени сложности и увеличили архитектуру ткани легкого мелкого животного<sup>11,12</sup>. До настоящего времени инженерная легочная ткань, которая может быть вентилирована и перфузирована через дыхательные пути пациента и сосудистую сеть была ограничена неспособностью генерировать биоразлагаемый, очень эластичный легочный каркас, воспроизводящий легочный комплекс дыхательных путей, альвеолярную, и сосудистую архитектуру, которая может поддерживать газообмен с площади большой поверхности и поэтому, результаты до настоящего времени достаточно серьезны. Инженерное легкое должно иметь следующие характеристики: (а) содержать специфические легочные клетки; (b) представлять ветвящуюся геометрию дыхательных путей и содержать перфузированную микроциркуляторную часть; (с) обеспечивать барьерную функцию для отделения крови от воздуха, и (d) иметь механические свойства, которые позволяют вентиляцию при физиологических давлениях. Недавний результат показал, что легочный каркас может быть засеян несколькими типами клеток, определяющиеся специальными

поверхностными маркерами. Развитие функциональных особенностей легкого и оценка инженерных легких в исследованиях на крупных животных являются сложной задачей для продолжающегося исследования.

Даже при том, что до пересадки тканей легкого в клинике все еще далеко, все же разрабатываются потенциальные подходы и они доступны для проверки их возможностей.

Клеточная терапия и биоинженерия органов могут обойти вышеупомянутые проблемы донорских органов дарителя и иммуносупрессивной терапии и могут, следовательно, представлять собой очень многообещающий терапевтический выбор.



## 1. Цели проекта

Регенеративная медицина является быстрорастущей и высокопотенциальной областью в медицинских исследованиях. Чтобы увеличить знания в этой области и передать результаты в клинику, мы должны создать основные средства, которые позволяют проводить исследования высокого уровня и перспективы. Такие средства должны обеспечить место для проведения исследования, совместные знания экспертов и поддержку молодых ученых и исследователей для вхождения в эту область. Мы уже продемонстрировали эффективность биоинженерной ткани для применения в клинике.

Цель этого проекта состоит в том, чтобы ввести в работу оборудование, которое может исследовать и изучать механизм и направления клеточной терапии и тканевой инженерии в области легочной ткани. Далее, мы намереваемся передать нашу уже клинически прикладную *in vivo* биоинженерную трахеальную методологию и экспериментально прикладную клеточную терапию к легкому и к разработке органов, которые можно использовать в клинических условиях. Поэтому мы выполним проект в 4 фазы в течение следующих трех лет.

**Фаза первая.** Экспериментальные установки и следующее оборудование будет установлено:

- Рабочие места
- Чистые комнаты, комната культуры клетки
- Расходные материалы
- Рабочие места для хирургических операций на мелких животных
- Приборы для децеллюляризации и испытательные приборы
- Инкубатор, холодильник, морозильные камеры
- Оборудование для гистологических и иммунохимических исследований, различные микроскопы
- PCR (полимеразная цепная реакция), PCR в реальном времени, приборы для иммунологического исследования "вестерн блоттинг"

**Вторая фаза.** Будет осуществляться интенсивная фаза *in vitro*, и будут проведены различные оценочные процессы. Протеомика исследует уровень экспрессии протеина как на бесклеточных каркасах, так и на инженерных легких. Исследования *in vitro* будут выполнены на клетках и профиле экспрессии гена в пределах культуры, дифференциации и постотбора.

Цель этих исследований *in vitro* - стандартизировать и проверить начальные результаты наших ранее проведенных исследований клеточной терапии при легочной гипертензии и клеточном применении в инженерии трахеальной ткани. Основные направления должны быть освещены для улучшения знаний биологии стволовой клетки. Фундаментальные знания *in vitro* о поведении стволовой клетки абсолютно необходимы для понимания процессов и взаимодействий *in vivo*. Протеомика и исследования РНК будут проводится для выявления уровня экспрессии генов-мишеней в пределах процесса дифференциации стволовых клеток. Аналогично гены регуляторы будут объяснены посредством микро-РНК.<sup>13</sup>

Тотальная РНК будет маркирована и соединена с системой массивов miCHIP, основанный на ТМ – нормализованном захватывающим зонде (miRCURY). Массивы изображений будут генерированы при использовании лазерного сканера, miCHIP массивов, сканированных партиями, используя автоалгоритм Photo Multiplayer, с набором допусков насыщенности пикселей до 0.2 %. Изображения в Tiff, генерируемые лазерным сканнером будут обработаны микрочипами программного обеспечения для анализа и будет проведен анализ генного массива, как было ранее описано<sup>13</sup>. Эти методики могут быть выполнены либо нашими сотрудниками-партнерами из-за рубежа, либо местными партнерами, используя те же самые технологии. Однако, одна из целей этого проекта будет состоять в том, чтобы утвердить эти методики в ближайшем будущем на новом оборудовании.

Каркасы будут оценены, чтобы понять и, возможно, улучшить приживление клеток, благодаря специфичным поверхностным молекулам. Несколько

клеточных культур и протоколов дифференцирования будут оценены, чтобы улучшить и выбрать оптимальные методы. Дифференцированная клетка будет характеризоваться во время культивирования и дифференциации с точки зрения плоскости и относительно 3-мерных матриц, чтобы обнаружить изменение их фенотипов, связанных с различной окружающей средой. Сложной задачей будет оценка оптимального источника клетки, относительно инженерной дыхательной и других специфических клеток легких. Несколько типов клеток являются потенциальными кандидатами для этого вопроса, таких как iPSCs (индуцированные плюрипотентные стволовые клетки), мезенхимальные стволовые клетки (MSCs), гематопозитические стволовые клетки (HSCs), эндотелиальные клетки пуповины человека (HUVECs), амниотические стволовые клетки, однако, данные, полученные до настоящего времени не являются полностью удовлетворительными. Например, было продемонстрировано, что нет доказательств до недавнего времени предполагаемой гипотезы восстановления легкого альвеолярно-эпителиальных клеток нефракционированными клетками костного мозга либо очищенными гематопозитическими стволовыми клетками при систематическом ведении.<sup>14</sup> Мы показали преимущество и улучшенное ремоделирование, применяя MSCs via трахею на модели животного с легочной гипертензией. Приживление наших клеток было также низким и, следовательно, дифференциация была потенциально незначительной. Поэтому MSCs могут быть использованы для терапевтического применения, такого как клеточная терапия, но, возможно, не для инженерии легочной ткани. Дальнейшие исследования клеточного поведения в 3-мерных каркасах (имитациях физиологической среды) и пересадка *in vivo* в генетически модифицированные линии мышей являются необходимыми и будут проведены.

Мы будем исследовать наличие специфических клеточных маркеров легочной ткани (таких как пневмоцит-специфичный маркер 2 типа SP-C,

неспецифичный эпителиальный и эндотелиальный маркер caveолин-1 и пан-эпителиальный клеточный маркер СК-18) при ре-целлюларизации бесклеточных каркасов различными типами клеток, такими как MSCs, iPCs, HSCs и HUVECs. Также будут изучены экспрессия сурфактантовых протеинов А и С, тироидный фактор транскрипции -1 (Ttf1, также известный как Nkx2-1), пневмоцитовый маркер 1 типа T1 $\alpha$  и виментин.

Возможно дифференцировать стволовые клетки в экспрессию клеток легочного специфичного поверхностного маркера, но их функциональность хуже, либо поверхностный маркер исчезает при длительном культивировании. Другой целью будет прослеживание засеянных, либо вводимых стволовых клеток для наблюдения за их потенциальной дифференциацией *in vivo*, либо за приживлением. В таком случае, мы оценим уровень клеточного приживления и попытаемся увеличить этот уровень. Влияние терапии ревакцинации будет мониторироваться и изучаться, взятием образцов крови и изолированных клеток-предшественников и периферических стволовых клеток. Клеточный геномный и эпигенетический профиль будет оцениваться для проверки валидности результатов и, следовательно, возможности применять этот метод широкому диапазону пациентов.

Как упоминалось, основные направления хоуминга MSC плохо изучены. Таким образом, одной из целей проекта будет исследование специфичных направлений хоуминга стволовых клеток. Мультиплексный анализ цитокинов сможет помочь обеспечить основными цитокинами для понимания миграционных процессов MSCs в сторону поврежденной ткани.

Необходимые для этих исследований приборы: микроскопы, флуоресцентно-активированный клеточный сортинг (FACS), приборы для PCR, прибор Western blot. Некоторые специфические приборы и знания (такие как эпигенетика или протеомика) будут обеспечиваться сотрудниками (Каролинского института, Швеция; Университет Аахен, Германия; Институт Роберта Коха, Берлин, Германия; Биоэйрлаборатория, Флоренция, Италия;

Университет Бёрлингтона, Вермонт) и поэтапно упрочиваться в новом оборудовании.

**Третья фаза.** Результаты *in vitro* будут оценены на нескольких моделях животных *in vivo*.

Результаты и данные *in vitro* являются основными для понимания и определения основных направлений и механизмов. Однако, только в исследованиях *in vivo* можно получить глубокие данные для потенциальной передачи в клинику. Основная цель на этой фазе – исследовать и проверить все данные, полученные *in vitro* путем переноса их на модели животных *in vivo*. После выбора правильного источника клеток и протокола культура/дифференциация мы проведем множественные исследования на моделях животных.

Для исследования влияний клеточной терапии и её механизмов при различных условиях заболеваний легких будут использоваться модели животных как крыс, так и мышей. С этой целью мы будем использовать вызванные хирургически, вызванные токсическими реагентами (МСТ), и вызванные гипоксией модели легочной гипертензии. Для определения значимости степени воспалительной реакции на развитие и прогрессирование этой болезни, будут использованы генетически модифицированные животные (Cre-Lox рекомбинации для специфического воспаления соответствующих типов клеток). Введенные клетки, будут прослеживаться и определяться примененными ранее методами отслеживания. Дифференцирование и приживление клеток оценивается и выражается измерением ингибированных цитокинов. Также *in vitro* будут повторены прикладные методы генной и протеиновой экспрессии.

Одна проблема, которая до сих пор недостаточно раскрыта – это определение циркулирующих мезенхим из периферической крови. Мы смогли показать на недавних моделях животных и в клинических испытаниях, что уровень CD34 позитивных клеток в периферической крови после ревакцинационной терапии коррелирует с числом *in vitro*

культивированного эндотелиального предшественника (EP) и мезенхимальными стволовыми клетками (MSCs). Однако категорическая характеристика или сортировка в реальном времени этих клеток - предшественников в периферической крови как ответ мобилизации еще не были продемонстрированы. Предполагается, что мобилизация этих клеток является лишь ответом организма на воспаление. Мы стремимся исследовать новые методы определения путем FACS- анализа, чтобы дать определенные ответы на эти проблемы. Кроме того, мы намерены изучить их функциональность, как когда-либо-мобилизуемых клеток - предшественников и их поведение *in vivo*.

**Эта стадия должна принести серьезные данные для потенциального клинического исследования клеточной терапии у пациентов, страдающих от тяжелой легочной гипертензии и неподдающихся традиционному лечению.**

Относительно исследований тканевой инженерии: эксперименты будут прежде всего проводиться на крысах.

Ранее проведенные исследования будут подтверждены и улучшены. На этой стадии Биореакторы будут играть основную роль в децеллюляризации, и ре-целлюляризации инженерных каркасов. Функция *in vivo* будет широко оценена и проверена. Отобранные клетки будут изучены после трансплантации *in vivo* и проверены на фенотип и уровень экспрессии гена. Будут изучены и оценены легочная функция и клинический результат всех животных, получающих инженерные органы. Если данные будут удовлетворительны, то будет обсуждаться потенциальная пересадка нечеловеческим приматам. Могут использоваться свиньи, чтобы утвердить механические свойства инженерных органов. Однако, знание их клеточно-стволовой биологии слишком слабы, чтобы передать полученные данные непосредственно клинике.



Если данные достаточны для передачи нечеловеческим приматам, мы намереваемся спроектировать ткань легкого (целое легкое или доли), пригодного для пересадке пациентам с терминальной стадией заболеваний легких.

**Четвертая стадия.** После достаточных исследований *in vitro* и доклинических исследований мы потенциально перенесем идею клеточной терапии и тканевой инженерии в клинику. Относительно клеточной терапии: некоторые отобранные пациенты с тяжелой прогрессирующей легочной гипертензией и неподлежащие традиционному лечению будут лечиться с помощью изучаемой нами терапией стволовыми клетками. Относительно инженерии легочной ткани: некоторые отобранные пациенты с терминальной стадией заболеваний легких и не имеющие возможность получить донорское легкое в течение разумного срока, будут получать лечение с помощью инженерной ткани легкого.

Во время всего проекта будут проведены несколько мастер-классов, курсов и конференций для обеспечения и улучшения обучения широкого диапазона молодых ученых.

**Вывод.** Основной целью данного проекта является учреждение лучшего научно-исследовательского, образовательного и клинического центра в мире в области регенеративной медицины, который будет международно-признанным посредством публикаций в ведущих журналах и презентациях на крупных международных мероприятиях. Основной целью в главном научном аспекте является оценка молекулярных механизмов и основных направлений тканевой инженерии и клеточной терапии для регенерации дыхательных путей и легочной ткани. Биомедицинской целью является использование революционного научного прогресса для обеспечения трансляционных исследований для предупреждения и эффективного лечения широкого спектра заболеваний и создания новых методов восстановления органов.

**ПЛАН**

<b>Номер фазы</b>	<b>Цель фазы</b>	<b>Результат фазы</b>	<b>Продолжительность</b>	<b>Бюджет Мл.руб</b>
1	Экспериментальные установки и лаборатория. Покупка соответствующего Оборудования.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Будет установлена и учреждена лаборатория для специальных проектов. Будет установлено оборудование для работы <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>. Будут организованы биореакторы, комнаты культуры клетки, чистые помещения, рабочие места. Штат будет обучен и инструктирован для определенных целей.</li> <li>2. Будут определены рабочие планы и структуры.</li> <li>3. Будет инициировано сотрудничество с зарубежными и российскими исследовательскими группами.</li> </ol>	10/2011 - 03-05/2012	40
2	Исследования <i>in vitro</i>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. будет разработан и проведен широкий диапазон исследований <i>in vitro</i> таких как: клеточная изоляция (различные протоколы и виды животных), культура, дифференциация, протеомика, генная экспрессия, пролиферация, засеивание различных каркасов (как естественных, так и синтетических), иммунохимия, морфологический и механический анализ.</li> <li>2. подготовка этических предложений для исследований <i>in vivo</i></li> </ol>	04/2012-продолжается	70
3	Исследования <i>in vivo</i>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Будет определено и проведено несколько исследований на животных <i>in vivo</i> (включая мышей, крыс, свиней и нечеловеческих приматов)</li> <li>2. детальная оценка исследований <i>in vivo</i></li> </ol>	09.2012-06.2013	25
4	Начало перехода к клинике	1. после успешных <i>in vitro</i> и доклинических исследований мы, будем надеяться, сможем	2013	15

		перенести подход клеточной терапии и/или тканевую инженерию в клинику к отобранной когорте пациентов		
	Обучение/ Образование	- Будут проведены мастер-классы и курсы для молодых ученых для обучения в области регенеративной медицины - Будут организованы научные конференции по различным научно-исследовательским аспектам.	10.2011-продолжается	

**Ведущий ученый**

**Паоло Маккиарини**

Проректор

ГОУ ВПО КубГМУ

Минздравсоцразвития России

А.Н.Редько

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2011

М.П.

### Литература

1. Jungebluth P, Luedde M, Ferrer E et al. Mesenchymal stem cells restore lung function by recruiting resident and non-resident proteins. *Cell Transplant* 2011 in press.
2. Aguilar S, Scotton CJ, McNulty K et al. Bone marrow stem cells expressing keratinocyte fibrosis. *PLoS One* 2009; **4**: e8013.
3. Xu J, Qu J, Cao L et al. Mesenchymal stem cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice. *J Pathol* 2008; **214**: 472-81.

4. Nemeth K, Leelahavanichkul A, Yuen PS et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med* 2009; **15**: 42-9.
5. Ortiz LA, Gambelli F, McBride C et al. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; **100**: 8407-11.
6. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet* 2008; **372**: 2023-30.
7. Jungebluth P, Go T, Asnaghi A et al. Structural and morphologic evaluation of a novel detergent-enzymatic tissue-engineered tracheal tubular matrix. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009;138:586-93.
8. Baiguera S, Jungebluth P, Bums A et al. Tissue engineered human tracheas for in vivo implantation. *Biomaterials*. 2010;31:8931-8.
9. Asnaghi MA, Jungebluth P, Raimondi MT et al. A double-chamber rotating bioreactor for the development of tissue-engineered hollow organs: from concept to clinical trial. *Biomaterials*. 2009;30:5260-9.
10. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials* 2006;27:3675-83.
11. Ott et al. Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung. *Nat Med* 2010;16:927-33.
12. Petersen et al. Tissue-engineered lungs for in vivo implantation. *Science* 2010;329:538-41.
13. Roderburg C, Urban GW, Bettermann K et al. Micro-RNA profiling reveals a role for miR-29 in human and murine liver fibrosis. *Hepatology* 2011;53:209-18.
14. Kotton DN, Fabian AJ, Mulligan RC. Failure of bone marrow to reconstitute lung epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;33:328-34.