

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ: МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ И ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА

© В. Н. Котельников,^{1, 2} Э. В. Слабенко,¹
Ю. В. Заяц,¹ Б. И. Гельцер¹

¹ Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия
E-mail: boris.geltser@vvsu.ru

² Дальневосточный филиал государственного научно-исследовательского
испытательного института военной медицины, Владивосток, Россия
E-mail: 671235@mail.ru

В реализации задач по профилактике и лечению хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) важное значение принадлежит разработке экспериментальных моделей этой патологии, одним из основных требований к которым является их максимальная приближенность к реальной клинической практике. В обзоре систематизированы сведения по основным способам моделирования ХОБЛ, представлены данные литературы об их преимуществах и недостатках. Приведены результаты экспериментальных исследований по изучению основных патофизиологических механизмов развития ХОБЛ с использованием различных индукторов (табачного дыма, протеолитических ферментов, биологических агентов, аутоиммунного воспаления, комбинации индукторов и др.) и способов их доставки (интраназально, интратрахеально, интрапульмонально, парентерально, посредством ингаляций, инстилляций или инъекций). Отмечена существенная вариабельность восприимчивости различных видов лабораторных животных к предъявляемым патогенным нагрузкам на органы дыхания, что необходимо учитывать при планировании экспериментов. Показано, что индукторы экспериментальной ХОБЛ провоцируют развитие не только локальных изменений в органах дыхания, но и системных эффектов, характерных для данного заболевания. Важное значение в этих исследованиях должно принадлежать современным методам прижизненной визуализации, в частности микрокомпьютерной рентгеновской томографии сверхвысокого разрешения, что позволяет оценить динамику патологического процесса в органах дыхания и отвечает требованиям гуманного обращения с животными.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, модель.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 4. С. 396—411. 2018

V. N. Kotelnikov,^{1, 2} E. V. Slabenko,¹ Yu. V. Zayats,¹ B. I. Geltser.¹ EXPERIMENTAL MODELS OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE: METHODOLOGICAL APPROACHES AND RATIONALE OF SELECTION. ¹ Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia, e-mail: boris.geltser@vvsu.ru; ² Far Eastern Branch of the State Research and Test Institute of Military Medicine, Vladivostok, Russia, e-mail: 671235@mail.ru

In the implementation of tasks for the prevention and treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), it is important to develop experimental models of this pathology, one of the main requirements to which is their maximum approximation to actual clinical practice. The review systematizes information on the main methods of modeling COPD, presents the scientific literature on their advantages and disadvantages. The results of experimental studies on the main pathophysiological mechanisms of COPD development using various inducers (tobacco smoke, proteolytic enzymes, biological agents, autoimmune inflammation, the combination of inducers, etc.) and methods of their delivery (intranasally, intratracheally, intrapulmonally, parenterally, by inhalation, instillations or injections) were observed. There was a significant variability in the susceptibility of various types of laboratory animals to the pathogenic loads exerted on respiratory organs, which must be taken into account when planning experiments. It is shown that inducers of experimental COPD provoke the development of not only local changes in respiratory organs, but also systemic effects characteristic of this disease. Important in these studies should belong to modern methods of intravital imaging, in particular microcomputer X-ray tomography of ultrahigh resolution, which allows to assess the dynamics of the pathological process in respiratory organs and meets the requirements of humane treatment of animals.

Key words: review, chronic obstructive pulmonary disease, model.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 4. P. 396—411. 2018

В настоящее время хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является глобальной проблемой здравоохранения из-за высокой распространенности, смертности и тяжелого экономического бремени для государства и общества. В России распространенность ХОБЛ в общей популяции составляет 15.3 %, а среди лиц с респираторными симптомами — 21.8 % [1]. При этом ХОБЛ занимает третье место среди причин смерти населения в мире [24].

Несмотря на впечатляющие достижения в исследовании различных клинико-патофизиологических и фармакотерапевтических аспектов данного заболевания, остаются нерешенными многие вопросы, связанные с выяснением молекулярно-клеточных, генетических, эпигенетических и других механизмов патогенеза ХОБЛ, решение которых возможно только на основе кооперации достижений фундаментальной и клинической медицины. В этом смысле ХОБЛ — яркий пример такого взаимодействия, а моделирование этой патологии является важным инструментом для приобретения новых знаний по данной проблеме.

В настоящее время не существует «идеальных» моделей ХОБЛ, которые учитывали бы многообразие и вариабельность клинических проявлений данного заболевания у человека, стадию и тяжесть патологического процесса, выраженность бронхиальной обструкции и дыхательной недостаточности [32]. Кроме того, отсутствуют стандартные протоколы экспериментального моделирования ХОБЛ [71]. Несмотря на то что эти модели лишь имитируют некоторые черты заболевания у человека, выбор методов ее индукции, техник воспроизводства и спектра изучаемых параметров являются ключевым этапом в реализации конкретного исследовательского проекта. При этом особое значение принадлежит методам прижизненной верификации ХОБЛ на основе современных технологий визуализации.

Важность проблемы адекватного моделирования ХОБЛ подчеркивается во многих исследованиях, однако в литературе недостаточно систематизированных данных о преимуществах или недостатках отдельных моделей ХОБЛ, точные представления о которых являются необходимым условием для обоснования их выбора.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ ХОБЛ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

В настоящее время для моделирования экспериментальной ХОБЛ (ЭХОБЛ) ввиду экономических преимуществ чаще используют грызунов (мыши, крысы, морские свинки), но в ряде случаев — крупных животных: овец, собак, обезьян [3, 6, 21, 33, 39, 65]. Выделяют модели с впервые индуцированной ЭХОБЛ и модели, имитирующие обострение заболевания [60, 78]. По механизму предьявляемого воздействия на органы дыхания модели реализуются с помощью индукторов или ингибиторов [5, 62]. В качестве этиологических факторов ЭХОБЛ используют табачный дым (ТД), химические вещества (диоксид азота, диоксид серы, хлорид кадмия, неорганическую пыль и др.), протеолитические ферменты (папаин, человеческая или свиная эластаза, протеиназа-3 и др.), биологические агенты (бактерии, вирусы, бактериальный липополисахарид). Кроме того, для моделирования ЭХОБЛ используют трансгенных животных с избыточной экспрессией специфических генов или их селективным подавлением, индукцию апоптоза, аутоиммунные модели, комбинации методов [32]. Доставка в организм индукторов ЭХОБЛ осуществляется интраназально, интратрахеально, интрапальмонально, парентерально, посредством ингаляций, инстилляций или инъекций. Модели ЭХОБЛ могут модифицироваться за счет изменений времени экспозиции, концентрации индукторов или их комбинаций.

МОДЕЛИ ХОБЛ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ТАБАЧНЫМ ДЫМОМ

ХОБЛ является ведущей патологией среди смок-ассоциированных заболеваний [18]. Именно поэтому модели с использованием ТД относятся к наиболее релевантным, так как демонстрируют влияние прямого этиологического фактора на развитие характерных для данного заболевания морфофункциональных изменений в органах дыхания [95]. В качестве объектов моделирования ЭХОБЛ обычно выступают мыши, крысы и морские свинки. При этом крысы более резистентны к действию ТД, чем мыши, а морские свинки имеют самую высокую чувствительность к данному индуктору [33, 48]. Интенсивность воздействия ТД на экспериментальных животных определяется его концентрацией, включая никотин, угарный газ и другие компоненты, кратностью ингаляций в течение суток, их продолжительностью и длительностью эксперимента в целом, которая составляла в разных исследованиях от 1 месяца до 1 года. У мышей различных генотипных линий имеется повышенная или сниженная чувствительность к табачному аэрозолю [26, 47, 87]. Так, мыши некоторых линий демонстрируют толерантность как минимум к двум сигаретам в день в течение многих месяцев, тогда как у человека за этот период происходят определенные изменения в респираторной системе. Мышь в отличие от человека имеет облигатное носовое дыхание и неэффективную фильтрацию дымсодержащего аэрозоля. Ее дыхательные пути выстланы эпителиальными клетками и клетками Клара, но имеют недостаточное количество бокаловидных клеток. У мышей линии C57BL/6 и A/J после 2 месяцев воздействия ТД наблюдается потеря реснитчатых эпителиальных клеток, инфильтрация слизистой оболочки бронхов иммунными и воспалительными клетками (Т-клетки, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы), но отсутствуют количественные изменения клеток Клара [15, 39]. У мышей линии Balb/C уже через 4 дня пребывания в атмосфере ТД (воздействие сигаретами типа Winfield Red, 16 мг

смолы, 1.2 мг никотина и 15 мг окиси углерода) в жидкости бронхоальвеолярного лаважа наблюдали повышение числа макрофагов, нейтрофилов и экспрессию протеаз, а в ткани легкого фиксировали высокие уровни хемокинов и провоспалительных цитокинов [25]. Мыши линии C57BL/6 реагировали на ингаляции ТД более высоким уровнем секреции провоспалительных цитокинов, реактивного кислорода, матриксных металлопротеиназ (ММП), а также низким уровнем глутатионпероксидазы, чем мыши линии ICR [44, 66]. При использовании дым-индуцированной модели у мышей линии C57BL/6 проведена интратрахеальная аллогенная трансплантация изолятов моноклеарных клеток из костного мозга. Изучена также протективная роль эндотелиальных клеток-предшественников, которые демонстрировали защитную функцию при ЭХОБЛ [75]. ТД способствует продукции гликопротеина и програнулина, принимающего участие в регуляции многих физиологических функций. Однако роль последнего в развитии эмфиземы до конца не ясна [50].

Преимущество морских свинок для моделирования ХОБЛ было показано в ряде исследований [28, 55]. Так, в сравнении с крысами и мышами они имеют ряд преимуществ по анатомическим особенностям органов дыхания, вариантам аллергических и воспалительных ответов, а также чувствительности к ТД, выраженности ремоделирования воздухоносных путей и сосудов и др. [40]. У данных животных при моделировании ХОБЛ описаны нейтрофильная инфильтрация паренхимы легких, увеличение числа бокаловидных клеток и коллагена в дыхательных путях, а также гидроксипролина в легочной ткани [64]. Показано патогенетическое значение в развитии ЭХОБЛ реактивного кислорода и эластолитических энзимов: ММП 2, 8, 9, 12; катепсинов К, L, S, сериновых протеиназ [91]. Главный недостаток этих моделей — высокая стоимость по сравнению с мышами и крысами, недостаток иммунологических инструментов, прежде всего антител, дефицит трансгенных линий для исследований на молекулярном уровне, а также трудности в оценке функциональных проб [40].

ЭХОБЛ, индуцированная ТД, демонстрирует на любых видах животных ремоделирование органов дыхания за счет воспалительных и дегенеративных изменений. Это проявляется в истончении и разрыве межальвеолярных перегородок, эмфизематозном расширении альвеол, дистелектазах, деформации воздухоносных путей с сужением их просвета в результате очагового фиброза бронхов. Хроническое воспаление легочной ткани иллюстрируется ее инфильтрацией нейтрофилами и макрофагами, избыточной продукцией провоспалительных цитокинов, протеолитических ферментов, продуктов оксидативного стресса, факторов роста, хемоаттрактантов и др. [79]. В проводимых экспериментах было показано, что ТД «провоцирует» эпителиальные клетки бронхов к секреции трансформирующего фактора роста β (TGF- β) и фибробластного фактора роста (FGF), результатом чего является воспаление мелких дыхательных путей [11, 91].

На модели с использованием ТД изучены компоненты адаптивного иммунитета, IL-8 и хемоаттрактанты CD4⁺ Т-клеток, цитолитики CD8⁺ Т- и В-клеток, приводящие к клеточному некрозу и апоптозу, система комплемента и др. [49, 57, 91]. Определено влияние ТД на механизмы макрофагальной активации, секрецию провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6), привлечение циркулирующих CCL2 (аттрактанты моноцитов, которые позже дифференцируются в легочной ткани в макрофаги), CXCL8 (аттрактанты нейтрофилов, которые привлекаются LTB-4) и CXCL-9, CXCL-10, CXCL-11 (аттрактанты клеток Th1) [22]. Продемонстрирована роль ядерного фактора транскрипции NF- κ B-гетеродимера, состоящего из двух субъединиц p65 и

p50 в воспалении, индуцированном ТД. Субъединица p50 была найдена в повышенных количествах в бронхиальных биоптатах и мокроте [20] у курящих лиц, но отсутствовала у некурящих. NF-κB обнаруживается в альвеолярных макрофагах и в клетках дыхательных путей в неактивной некодирующей ДНК-связанной форме, ассоциированной с ингибиторным протеином IκBα [12]. ТД способствует деградации IκBα, что позволяет NF-κB мигрировать к ядру и связывать ДНК, иницируя транскрипцию генов [62]. Модель воспаления, ассоциированного с активацией NF-κB, развивается уже через 1 ч после ингаляции ТД от 4 сигарет и может быть использована как предиктор развития эмфиземы [85]. Низкий уровень транскрипционного фактора Nrf2 связан с повышенной чувствительностью к нейтрофильному воспалению и деградацией гистондеацетилазы-2 (HDAC2) [7]. HDAC2 — эпигенетик-регулятор и одновременно компонент комплекса кортикостероидных (КС) рецепторов, который содействует репрессии NF-κB, активации транскрипции деацетилазными гистонами в промоторных провоспалительных генах и деацетилированию КС-рецепторов [38]. Уровень Nrf2 заметно снижается в альвеолярных макрофагах и клетках дыхательных путей при ХОБЛ, что ассоциируется с тяжестью заболевания и интенсивностью воспаления в кондуктивной системе [40, 56]. Избыток макрофагов и нейтрофилов, привлеченных воздействием ТД, обеспечивает персистирующее воспаление в органах дыхания и развитие оксидативного стресса. Последний в свою очередь индуцирует апоптоз эндотелиальных и эпителиальных клеток и инактивирует защитные механизмы [80]. Более того, оксидативный стресс снижает уровень ядерного фактора Nrf2, регулирующего клеточный антиоксидантный ответ сверхрегуляторными генами, что способствует экспрессии генов, участвующих в детоксикации активного кислорода и электрофильных соединений [56].

Модели с ТД на грызунах демонстрировали не только морфофункциональные изменения в органах дыхания, но и такие системные проявления ЭХОБЛ, как потерю массы животных, оксидативную модификацию белков мышечной ткани респираторных и лимбических мышц, редукцию их силы, повышение активности катаболических факторов, остеопению, легочную артериальную гипертензию и др. [41]. При использовании методов функциональной диагностики у животных были зафиксированы изменения, характерные для избыточного сопротивления дыхательных путей воздушному потоку, демпфирования звука эмфизематозной легочной ткани, повышенной жесткости артерий, а также артериальная гипертензия, артериальная гипоксемия и другие изменения, характерные для этого заболевания [4, 46].

Модели ХОБЛ с ТД демонстрируют ряд общих недостатков. К наиболее важным из них можно отнести необходимость тестирования множества сложных химических соединений в составе курительных смесей, несмотря на то что детерминирующим фактором является доза дыма-индуктора [18, 95]. Именно поэтому для реализации релевантной смок-индуцированной модели должны быть использованы стандартные сигареты единого класса, а также быстрая доставка известной дозы никотина и оксида углерода в дыхательные пути. Необходимо отметить, что большинство моделей воспроизводят ХОБЛ 1-й и 2-й степени, но не демонстрируют клинические проявления тяжелой эмфиземы, характерной для человека с эмфизематозным фенотипом ХОБЛ [40, 47, 91]. Кроме того, модели с ТД на животных не воспроизводят «классический» хронический обструктивный бронхит, характерный для курящих людей [91]. Было показано, что повреждение органов дыхания, вызванное индукцией ТД у животных, не прогрессирует, как у человека после прекращения воздействия дыма: уровень клеток воспаления возвращается к цифрам конт-

роля, а коэффициент вентиляция/перфузия нормализуется [67]. К недостаткам моделей с ТД относят длительный период наблюдения за животными, который составляет от нескольких месяцев до 1 года [96]. Кроме того, необходимо учитывать вид и породу животных, участвующих в эксперименте, ввиду их различной чувствительности к ТД, что имеет важное значение для интерпретации результатов исследования. Например, у морских свинок при ЭХОБЛ, индуцированной ТД, находят альтерацию легочных сосудов, что не фиксируют в аналогичных моделях с использованием крыс или мышей [55].

МОДЕЛИ ХОБЛ НА ОСНОВЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ

Липополисахарид (ЛПС) — главный компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий, являющийся естественным контаминантом при табакокурении и при загрязнении воздушной среды, а также компонентом органической пыли [64]. ЛПС может быть важнейшей причиной бактериальной инфекции, провоцирующей обострение ХОБЛ, которая вносит значительный вклад в клиническое течение заболевания [78]. Даже единственная массивная инстиляция ЛПС в дыхательные пути в дозе 40 мг/кг может быть причиной их воспалительного ответа с гиперсекрецией и бронхоконстрикцией [45], что используется при моделировании ЭХОБЛ [77]. На мышках, крысах и морских свинках применение ЛПС для индукции ЭХОБЛ демонстрирует ремоделирование дыхательных путей, воспаление легочной ткани, гиперплазию бокаловидных клеток [10]. Воспалительный ответ индуцировался после применения интрапульмональной инстиляции аэрозоля ЛПС дважды в неделю в течение 12 недель [8] или после его интраназального введения [10, 35]. На данной модели у грызунов показаны высокие уровни интерлейкинов (IL-12 и IL-4) и хемокинов (CXCL-10 и CCL-22) в жидкости бронхоальвеолярного лаважа [8]. Хроническое воздействие на животных ЛПС индуцирует патогенетические черты ХОБЛ, такие как воспаление легочной ткани, гиперреактивность дыхательных путей и структурную деформацию органов дыхания [16, 51]. В ряде случаев патофизиологические изменения напоминали проявления острого респираторного дистресс-синдрома [90].

Нередко при моделировании ХОБЛ используют комбинации ЛПС с другими индукторами. Так, на модели мыши эмфизему индуцировали эластазой и интратрахеальным введением ЛПС дважды в неделю в течение 4 недель [77]. Через 6 месяцев наблюдали интенсивную гиперплазию бронхиальных мукоидных клеток и значительное увеличение их количества [35]. Обострение ЭХОБЛ индуцировали, используя только одно интратрахеальное введение ЛПС в дозе 1 мг/кг мышам с эластаз-индуцированной эмфиземой. Через 3 дня после введения ЛПС наблюдалась инфильтрация нейтрофилами и CD8+ клетками жидкости бронхоальвеолярного лаважа, повышенный уровень MMP-9 и их тканевого ингибитора (TIMP-1). Через 12 недель на микроКТ была обнаружена необратимая тяжелая альвеолярная деструкция [45].

При использовании модели ХОБЛ с ТД и аэрозольным введением ЛПС (0.3 мг/мл) наблюдали нейтрофильную инфильтрацию легких и бронхов, гиперсекрецию слизи и снижение функциональных показателей легких [35]. Аналогичная комбинация ТД с однократной интратрахеальной инстиляцией 200 мг/кг ЛПС вызывала инфильтрацию легочной ткани клетками воспаления и гиперплазию бокаловидных клеток в дыхательных путях [61]. В ряде работ

показано, что при комбинации ТД и двух интратрахеальных инстилляций ЛПС (1 мг/мл) наблюдается гиперинфляция легких, снижается экспрессия протеинов сурфактанта (SP-A и SP-C) и усиливается апоптоз альвеоцитов [51]. При интрапульмональном, интраназальном или аэрозольном введении ЛПС (дважды в неделю) на фоне воздействия ТД у мышей, морских свинок и хомьяков эмфизематозные изменения появляются через 4 недели [32].

Мыши демонстрируют чувствительность к *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* [64, 92]. Так, наблюдали тяжелое воспаление верхних дыхательных путей у мышей линии C57BL/6 после воздействия ТД, колонизации нетипичной *Haemophilus influenzae* (NTHI) и *Streptococcus pneumoniae* [93]. Такой же результат отмечен и при замещении ТД эластазой. Продемонстрировано снижение содержания молекул внутриклеточной адгезии (ICAM-1) в эпителии воздухоносных путей и низкие значения клиренса NTHI у животных с признаками пневмонии [63]. На модели мышей линий C57BL/6 и BALB/c наблюдали воспаление и повреждение легочной ткани после воздействия ТД в течение 8 недель и последовательного введения им NTHI. На обеих линиях показано, что NTHI вызывал гиперсекрецию моноцит-хемотаксических протеинов (MCP) 1, 3, 5 [63, 92].

Экзотоксин *Staphylococcus aureus* B (SEB) использовали у мышей линии C57BL/6 после воздействия ТД в течение 4 недель. При этом наблюдали повышение концентрации CD8+ Т-лимфоцитов и гранулоцитов в жидкости бронхоальвеолярного лаважа, а в стенках бронхов — гиперплазию бокаловидных клеток [37]. При изучении влияния ТД на бактериальный клиренс и процесс иммунного воспаления у мышей обнаружены высокие концентрации TNF- α , IL-1 β , IL-6, MIP-1 и MIP-2 в гомогенатах легочной ткани после острой инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* [68] и *Chlamydia pneumoniae* [51].

Вирусные респираторные инфекции являются частой причиной обострения ХОБЛ. При этом обострения ЭХОБЛ, индуцированные использованием вирусных агентов, вызывают гиперреактивность дыхательных путей, активацию макрофагов и натуральных киллеров. Их существенный недостаток заключается в возможности провоцировать развитие бронхиальной астмы [6, 21]. Показано, что индукция обострения ЭХОБЛ вирусом NTHI на фоне эластаз-индуцированной эмфиземы приводит к развитию тяжелой пневмонии, проявлением которой являлись консолидация ткани легкого, ателектазы, геморрагии, инфильтрация нейтрофилами, высокие уровни TNF- γ и IL-8 в жидкости бронхоальвеолярного лаважа и в плазме крови [31]. В других исследованиях также были предприняты попытки индуцировать вирусной инфекцией обострение ЭХОБЛ. Так, на линию мышей C57BL/6J воздействовали ТД в течение 4 дней с последующей инокуляцией вируса *Influenza A* (H1N1), в результате чего наблюдался повышенный уровень мононуклеарных и нейтрофильных клеток, провоспалительных цитокинов, протеаз, хемокинов в жидкости бронхоальвеолярного лаважа [13]. Продемонстрировано, что блокирование IL-1 α является защитным фактором, противостоящим дым-индуцированному повреждению легких нейтрофилами, а нейтрализация IL-1R ослабляет гиперергический иммунный ответ к H1N1-вирусной инфекции. Все это является обоснованием для использования в качестве таргетной терапии блокаторов IL-1 α /IL-1R при вирусном обострении ХОБЛ [54]. При остром и хроническом воздействии ТД с последующим инфицированием H1N1 наблюдался высокий уровень местного и системного воспаления, сопровождающийся снижением ответа дыхательных путей на бронходилататоры [13].

МОДЕЛИ ХОБЛ НА ОСНОВЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Одним из ключевых механизмов развития ХОБЛ является дисбаланс эластазной и антиэластазной активности, приводящий к ферментативной дегградации эластина легочной ткани [9, 90]. В связи с этой концепцией патогенеза ХОБЛ предложены модели данного заболевания с использованием эластолитических энзимов, включая панкреатическую эластазу, человеческую нейтрофильную эластазу, протеиназу-3, растительную цистеиновую протеиназу папаин для протеолитического ремоделирования легочной ткани и индукции воспалительного процесса [81]. При этом инстилляцией неэластолитических энзимов, например коллагеназы, не провоцирует развитие эмфиземы [73].

Патофизиологические механизмы эластазой модели ЭХОБЛ во многом повторяют характеристики дым-индуцированной модели: ограничение воздушного потока, гиперинфляцию легких, локальное и системное воспаление и др. [42]. Протеиназ-индуцированная эмфизема связана с апоптозом эпителиальных и эндотелиальных клеток, дегградацией экстрацеллюлярного матрикса, оксидативным стрессом и реализацией других типовых патологических процессов. Каскад этих изменений позволяет изучать на данной модели отдельные фазы развития эмфиземы и нейтрофильного воспаления [70]. Как и при реализации других моделей, у крыс после введения эластазы обнаруживаются высокие уровни провоспалительных цитокинов в жидкости бронхоальвеолярного лаважа [9]. Модель с эластазой является удобной для изучения отдаленных последствий патогенного воздействия и восстановления альвеолярной ткани. Так, показано, что ретиноидная кислота обладает способностью запускать процессы восстановления легочной ткани у взрослых крыс-самцов после повреждения эластазой [58]. Привлечение клеток воспаления и дисбаланс в системе протеиназы—антипротеиназы в конечном итоге приводят к дегградации внеклеточного матрикса, рекрутингу и активации воспалительных клеток, повышению активности MMP-8, MMP-9 и MMP-12, разрушающих различные матриксные компоненты, в том числе коллаген, эластин, и приводящих к деструкции альвеолярных стенок [76]. При этом особая роль в этих процессах принадлежит макрофагальной и нейтрофильной эластазе [74]. На эластазной модели была продемонстрирована сверхэкспрессия IL-13 и интерферона-гамма (IFN γ), играющих важную роль при воспалении дыхательных путей. IFN γ является также значимым фактором апоптоза клеток [94]. Указанные изменения способствуют повреждению легких, характерному для дефицита α 1-антитрипсина [59].

Существует множество протоколов протеиназ-индуцированной модели с использованием широкого ряда животных (мыши, крысы, хомяки), и все они воспроизводят черты ХОБЛ у человека [59, 72]. Эти модели отличает много преимуществ: низкая стоимость, техническая простота воспроизведения заболевания и высокая результативность — даже единичная инстилляцией энзима в дыхательные пути способна вызывать повреждение легких. Тяжесть заболевания можно контролировать, регулируя количество вводимого энзима. Кроме того, ремоделирование тканей, морфологическая деструкция паренхимы легкого, функциональные изменения сохраняются в течение длительного времени и соответствуют проявлениям ХОБЛ у человека [72].

Показано, что у мышей линии C57BL/6J даже после однократного интра-трахеального введения эластазы на компьютерной микротомографии регистрировались области с более низкой плотностью легочной ткани, чем у животных с дым-индуцированной моделью, что свидетельствует о более заметных

эмфизематозных изменениях [34]. Доказано, что линия мышей BALB/C является более чувствительной, чем линия C57BL/6J к повреждениям, вызванным эластазой, что иллюстрировалось более значительными показателями потери массы тела, снижения функции легких и деструкции альвеолярной ткани [52]. Степень легочной деструкции в значительной мере зависит от дозы и кратности введения эластазы. Так, введение пяти доз эластазы с интервалом в одну неделю вызывали тяжелую альвеолярную деструкцию и системные проявления ЭХОБЛ: дисфункцию диафрагмы, сниженную толерантность к физическим нагрузкам, легочную и артериальную гипертензию. Эти изменения сохранялись даже через 6 месяцев после острого повреждения [53]. Более того, многократные инстилляций эластазы мышам вызывали развитие легочного сердца — одной из ведущих причин смерти у пациентов с ХОБЛ. В других экспериментах крысы после интратрахеального введения эластазы наблюдались в течение 7, 15, 30 и 365 дней, что позволило оценить динамику патологического процесса и особенности восстановления альвеолярной ткани [14, 90].

В ряде работ описаны изменения после введения эластазы, связанные с особенностями дезорганизации эластина, протеогликана и ремоделированием коллагена [69, 82, 83].

Однако, как и в модели с ТД, эффекты воздействия на органы дыхания зависели от нескольких факторов, включая линию грызунов, дозы энзима в каждой инстиляции и их количества. На модели хомяков была индуцирована эмфизема легких папаином и эластазой и проведена сравнительная оценка выраженности повреждения легочной ткани. Выявлено, что эти ферменты обладают одинаковой активностью в отношении воспроизводимых ими локальных и системных эффектов ЭХОБЛ [17]. На модели с папаином исследовался и предлагался к применению для терапии эмфиземы гиалуронан-длинноцепочный полисахарид ввиду наличия у него протективных свойств, противостоящих разрушению эластических волокон. Гиалуронан способен заменить потерю компонентов экстрацеллюлярного матрикса при ХОБЛ, что нашло свое подтверждение в проведенных исследованиях биоптатов легких у здоровых лиц и больных эмфиземой, вызванной дефицитом $\alpha 1$ -антитрипсина [19]. На папаин-индуцированной модели эмфиземы были проведены исследования регенеративных эффектов мезенхимальных стволовых клеток (MSC) [30]. Предполагается, что трансплантация MSC повышает экспрессию васкулярного эндотелиального фактора роста (VEGF), ингибирует апоптоз, что препятствует развитию эмфиземы. Кроме того, доказано, что TNF- α секретируется из папаин-обработанных клеток легких и побуждает MSC секретировать VEGF-A.

К недостаткам экспериментальных моделей ХОБЛ на основе протеолитического ремоделирования органов дыхания можно отнести отсутствие персистирующего хронического воспаления в дыхательных путях, как это имеет место в результате хронической ингаляции ТД — главного фактора развития ХОБЛ у человека. Кроме того, скорость развития протеолитической эмфиземы не сопоставима с реальными темпами формирования заболевания у человека [52]. И наконец, эффекты, инициируемые протеиназами имитируют лишь конечный результат сложного каскада патофизиологических механизмов развития ХОБЛ у человека [32].

АУТОИММУННАЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ХОБЛ

Патофизиологическая концепция данной модели основана на том, что некоторые черты развития ХОБЛ у некурящих пациентов демонстрируют «классические» признаки аутоиммунного заболевания: семейную предрасположенность, наличие системных экстрапульмональных проявлений, прогрессирующее течение заболевания даже в случаях устранения патогенного воздействия, в том числе ТД [23]. Для подтверждения гипотезы о патогенетической роли аутоиммунного воспаления в развитии эмфиземы «голым» крысам интраперитонеально вводили человеческие умбиликальные эндотелиальные клетки (HUVECs) и продемонстрировали их способность продуцировать антитела, противостоящие гуморальному ответу (anti-EC humoral response). Это приводило к притоку CD4⁺ в легкие, апоптозу альвеолярных септальных клеток, активации MMP и в конечном итоге к эмфиземе легких [88]. Интраперитонеальное введение взвеси частиц, экстрагированных из ТД, вместо чужеродных эндотелиальных клеток показало, что этот фактор также может воздействовать как антигенный триггер, провоцирующий аутоиммунный ответ и оксидативный стресс [27]. Эти подходы могут воспроизводить эмфизему, но использование для их реализации ксеногенных клеток и внешних триггеров не может имитировать «реальный» патогенез аутоиммунного процесса. В то же время было показано, что экстрацеллюлярный матриксный эластин, коллаген и декорин в легких могут выступать в качестве аутоантигенов, индуцирующих развитие ХОБЛ [43]. Аутоиммунная концепция патогенеза ХОБЛ ассоциируется с возможностью создания новых моделей данного заболевания и перспективой исследования ранее не изученных механизмов его патогенеза [71].

МЕТОДЫ ПРИЖИЗНЕННОЙ ВЕРИФИКАЦИИ ЭХОБЛ

Рентгеновская компьютерная томография органов и тканей лабораторных животных является одним из наиболее информативных методов прижизненной диагностики, позволяющим в режиме реального времени оценить динамику патологического процесса. Это в полной мере относится и к ЭХОБЛ [86, 89]. Для более точной оценки выраженности патологических изменений в легких у лабораторных животных используют режим инспираторно-экспираторного сканирования, позволяющий дать характеристику линейным, объемным и денситометрическим параметрам легочной ткани в динамике дыхательного цикла [2, 36]. Показано, что у крыс с ЭХОБЛ линейные и объемные размеры легких снижаются на вдохе и увеличиваются на выдохе, что свидетельствует об ограничении экспираторного воздушного потока, неполном опорожнении альвеол на выдохе, снижении емкости вдоха и легочной гиперинфляции [45]. Кроме того, микротомография органов дыхания у лабораторных животных позволяет оценить функциональную активность диафрагмы с определением интенсивности ее сокращений, толщину мышечной части и амплитуду экскурсии. Установлено, что степень изменений функциональных параметров главного инспиратора зависит от тяжести ЭХОБЛ [84]. Визуальная и денситометрическая характеристика легочной ткани при ЭХОБЛ свидетельствует, как правило, о наличии «мозаичных» изменений с очагами повышенной воздушности, а также участков с деформацией легочного рисунка и нечеткими контурами перибронховаскулярного интерстиция. Эти данные указывают на наличие смешанного эмфизематозно-пневмосклеротического

типа поражения органов дыхания. Такие изменения характерны для моделей, индуцированных ТД, биологическими агентами или комбинацией этих методов. У животных с протеиназной моделью ХОБЛ доминируют признаки эмфиземы легких [29]. Методами, характеризующими функциональный статус лабораторных животных с ЭХОБЛ, являются пульсоксиметрия, пневмотахография, электрокардиография с исследованием механизмов вегетативной регуляции, измерение артериального давления, а также мониторинг биохимических и иммунологических индикаторов выраженности локального и системного воспаления [4, 32].

Таким образом, использование современных средств прижизненной верификации морфологических изменений в органах дыхания повышает эффективность исследования патофизиологических механизмов развития различных вариантов ЭХОБЛ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Авдеев С. Н. Можно ли улучшить прогноз у больных хронической обструктивной болезнью легких. Пульмонология. 25 (3): 469—476. 2015.
- [2] Гельцер Б. И., Заяц Ю. В., Котельников В. Н. Прижизненная верификация экспериментальной хронической обструктивной болезни легких различной степени тяжести. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 104 (1): 78—87. 2018.
- [3] Кузубова Н. А., Федин А. Н., Лебедева Е. С., Тутова О. Н. Изменение дилатационного резерва легочных артерий на этапах формирования модели хронической обструктивной болезни легких. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 99 (2): 230—237. 2013.
- [4] Котельников В. Н., Осипов И. О., Заяц Ю. В., Гельцер Б. И. Оценка вегетативной регуляции сердца при острой экзогенной нормобарической гипоксии различной степени тяжести в эксперименте. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 164 (11): 541—546. 2017.
- [5] Тутова О. Н., Кузубова Н. А., Лебедева Е. С., Преображенская Т. Н., Суркова Е. А., Двораковская И. В. Противовоспалительный и регенеративный эффект пептидной терапии на модели обструктивной патологии легких. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 103 (2): 201—208. 2017.
- [6] Abraham W. M. Modeling of asthma, COPD and cystic fibrosis in sheep. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 21 (5): 743—754. 2008.
- [7] Adenuga D., Caito S., Yao H., Sundar I. K., Hwang J. W. Nrf2 deficiency influences susceptibility to steroid resistance via HDAC2 reduction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 403: 452—456. 2010.
- [8] Al Faraj A., Shaik A. S., Afzal S., Al Sayed B., Halwani R. MR imaging and targeting of a specific alveolar macrophage subpopulation in LPS-induced COPD animal model using antibody-conjugated magnetic nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine.* 9: 1491. 2014.
- [9] Antunes M. A., Rocco P. R. Elastase-induced pulmonary emphysema: insights from experimental models. *An. Acad. Bras. Cienc.* 83 (4): 1385—1396. 2011.
- [10] Baarsma H. A., Bos S., Meurs H., Visser K. H., Smit M., Schols A., Langen R. C., Kerstjens H. A., Gosens R. Pharmacological inhibition of GSK-3 in a guinea pig model of LPS-induced pulmonary inflammation: I. Effects on lung remodeling and pathology. *Respir. Res.* 14 (1): 113. 2013.
- [11] Barnes P. J. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Clin. Invest.* 118: 3546—3556. 2008.
- [12] Barnes P. J. New anti-inflammatory targets for chronic obstructive pulmonary disease. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 12: 543—559. 2013.
- [13] Bauer C. M., Zavitz C. C., Botelho F. M., Lambert K. N., Brown E. G., Mossman K. L., Taylor J. D., Stämpfli M. R. Treating viral exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: insights from a mouse model of cigarette smoke and H1N1 influenza infection. *PLoS One.* 5: e13251. 2010.
- [14] Borzone G., Liberona L., Olmos P., Saez C., Meneses M., Reyes T., Moreno R., Lisboa C. Rat and hamster species differences in susceptibility to elastase-induced pulmonary emphysema

- relate to differences in elastase inhibitory capacity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 293 (3): R1342—R1349. 2007.
- [15] *Braber S., Henricks P. A., Nijkamp F. P., Kraneveld A. D., Folkerts G.* Inflammatory changes in the airways of mice caused by cigarette smoke exposure are only partially reversed after smoking cessation. *Respir. Res.* 11: 99. 2010.
- [16] *Brass D. M., Hollingsworth J. W., Cinque M., Li Z., Potts E., Toloza E., Foster W. M., Schwartz D. A.* Chronic LPS inhalation causes emphysema-like changes in mouse lung that are associated with apoptosis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 39 (5): 584—590. 2008.
- [17] *Brunnquell C. R., Vieira N. A., Sabio L. R., Sczepanski F., Cecchini A. L., Cecchini R., Guarnier F. A.* Oxidative and proteolysis-related parameters of skeletal muscle from hamsters with experimental pulmonary emphysema: a comparison between papain and elastase induction. *Int. J. Exp. Pathol.* 96 (3): 140—150. 2015.
- [18] *Brusselle G., Bracke K., Maes T., D'hulst A., Moerloose K., Joos G., Pauwels R. A.* Murine models of COPD. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 19 (3): 155—165. 2006.
- [19] *Cantor J., Armand G., Turino G.* Lung hyaluronan levels are decreased in alpha-1 anti-protease deficiency COPD. *Respir. Med.* 109 (5): 656—659. 2015.
- [20] *Caramori G., Romagnoli M., Casolari P., Bellettato C., Casoni G., Boschetto P., Chung K. F., Barnes P. J., Adcock I. M., Ciaccia A., Fabbri L. M., Papi A.* Nuclear localisation of p65 in sputum macrophages but not in sputum neutrophils during COPD exacerbations. *Thorax.* 58: 348—351. 2003.
- [21] *Chapman R. W.* Canine models of asthma and COPD. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 21 (5): 731—742. 2008.
- [22] *Chen K., Pociask D. A., McAleer J. P., Chan Y. R., Alcorn J. F., Kreindler J. L., Keyser M. R., Shapiro S. D., Houghton A. M. G., Kolls J. K., Zheng M.* IL-17RA is required for CCL2 expression, macrophage recruitment, and emphysema in response to cigarette smoke. *PLoS One.* 6: e20333. 2011.
- [23] *Cosio B. G., Agusti A.* Autoimmunity in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Arch. Bronconeumol.* 41: 10—14. 2005.
- [24] *Ehteshami-Afshar S., FitzGerald J. M., Doyle-Waters M. M., Sadatsafavi M.* The global economic burden of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.* International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. 20 (1): 11—23. 2016.
- [25] *Eppert B. L., Wortham B. W., Flury J. L., Borchers M. T.* Functional characterization of T cell populations in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Immunol.* 190: 1331—1340. 2013.
- [26] *Esquivel A. L., Pérez-Ramos J., Cisneros J., Herrera I., Rivera-Rosales R., Montaña M., Ramos C.* The effect of obesity and tobacco smoke exposure on inflammatory mediators and matrix metalloproteinases in rat model. *Toxicol. Mech. Methods.* 24: 633—643. 2014.
- [27] *Feghali-Bostwick C. A., Gadgil A. S., Otterbein L. E., Pilewski J. M., Stoner M. W., Csizmadia E., Zhang Y., Sciurba F. C., Duncan S. R.* Autoantibodies in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177: 156—163. 2008.
- [28] *Feizpour A., Boskabady M. H., Ghorbani A.* Adipose-derived stromal cell therapy affects lung inflammation and tracheal responsiveness in guinea pig model of COPD. *PLoS One.* 9 (10): e108974. 2014.
- [29] *Froese A. R., Ask K., Labiris R., Farncombe T., Warburton D., Inman M. D., Gauldie J., Kolb M.* Three-dimensional computed tomography imaging in an animal model of emphysema. *Eur. Respir. J.* 30 (6): 1082—1089. 2007.
- [30] *Furuya N., Takenaga M., Ohta Y., Tokura Y., Hamaguchi A., Sakamaki A., Kida H., Handa H., Nishine H., Mineshita M., Miyazawa T.* Cell therapy with adipose tissue-derived stem/stromal cells for elastase-induced pulmonary emphysema in rats. *Regen. Med.* 7: 503—512. 2012.
- [31] *Ganesan S., Faris A. N., Comstock A. T., Sonstein J., Curtis J. L., Sajjan U. S.* Elastase/LPS-exposed mice exhibit impaired innate immune responses to bacterial challenge: role of scavenger receptor A. *Am. J. Pathol.* 180: 61—72. 2012.
- [32] *Ghorani V., Boskabady M. H., Khazdair M. R., Kianmehr M.* Experimental animal models for COPD: a methodological review. *Tobacco Induced Diseases.* 15: 25. 2017.
- [33] *Ghorbani A., Feizpour A., Hashemzahi M., Gholami L., Hosseini M., Soukhtanloo M., Vafaei Bagheri F., Khodaei E., Mohammadian Roshan N., Boskabady M. H.* The effect of adipo-

- se derived stromal cells on oxidative stress level lung emphysema and white blood cells of guinea pigs model of chronic obstructive pulmonary disease. *Daru*. 22 (1): 22—26. 2014.
- [34] Harada H., Imamura M., Okunishi K., Nakagome K., Matsumoto T., Sasaki O., Tanaka R., Yamamoto K., Dohi M. Upregulation of lung dendritic cell functions in elastase-induced emphysema. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 149 (1): 25—30. 2009.
- [35] Hardaker E., Freeman M., Dale N., Bahra P., Raza F., Banner K., Poll C. Exposing rodents to a combination of tobacco smoke and lipopolysaccharide results in an exaggerated inflammatory response in the lung. *Br. J. Pharmacol.* 160 (8): 1985—1996. 2010.
- [36] Hogg J. C., McDonough J. E., Sanchez P. G., Cooper J. D., Coxson H. O., Elliott W. M., Naiman D., Pochettino M., Horng D., Gefter W. B., Wright A. C. Micro-computed tomography measurements of peripheral lung pathology in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 6 (6): 546—549. 2009.
- [37] Huvenne W., Lanckacker E. A., Krysko O., Bracke K. R., Demoor T., Hellings P. W., Brusselle G. G., Joos G. F., Bachert C., Maes T. Exacerbation of cigarette smoke-induced pulmonary inflammation by *Staphylococcus aureus* enterotoxin B in mice. *Respir. Res.* 12: 69. 2011.
- [38] Ito K., Yamamura S., Essilfie-Quaye S., Cosio B., Ito M., Barnes P. J., Adcock I.M. Histone deacetylase 2-mediated deacetylation of the glucocorticoid receptor enables NF-kappa B suppression. *J. Exp. Med.* 203 (1): 7—13. 2006.
- [39] John G., Kohse K., Orasche J., Reda A., Schnelle-Kreis J., Zimmermann R., Schmid O., Eickelberg O., Yildirim A. Ö. The composition of cigarette smoke determines inflammatory cell recruitment to the lung in COPD mouse models. *Clin. Sci.* 126 (3): 207—221. 2014.
- [40] Jones B., Donovan C., Liu G., Gomez H. M., Chimankar V., Harrison C. L., Cornelis H. Animal models of COPD: What do they tell us? *Respirology*. 22 (1): 21—32. 2017.
- [41] Kamiide Y., Furuya M., Inomata N., Yada T. Chronic exposure to cigarette smoke causes extrapulmonary abnormalities in rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 39 (2): 864—870. 2015.
- [42] Karaaslan Ç., Hirakawa H., Yasumatsu R., Chang L.-Y.L., Pierce R. A., Crapo J. D., Cataltepe S. Elastase inhibitory activity of airway α 1-antitrypsin is protected by treatment with a catalytic antioxidant in a baboon model of severe bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr. Res.* 70 (4): 363—367. 2011.
- [43] Kheradmand F., Shan M., Xu C., Corry D. B. Autoimmunity in chronic obstructive pulmonary disease: clinical and experimental evidence. *Expert. Rev. Clin. Immunol.* 8 (3): 285—292. 2014.
- [44] Knudsen L., Wucherpfennig K., Mackay R. M., Townsend P., Muhlfield C., Richter J., Hawgood S., Reid K., Clark H., Ochs M. A recombinant fragment of human surfactant protein D lacking the short collagen-like stalk fails to correct morphological alterations in lungs of SP-D deficient mice. *Anat. Rec.* 292 (2): 183—189. 2009.
- [45] Kobayashi S., Fujinawa R., Ota F., Angata T., Ueno M., Maeno T., Kitazume S., Yoshida K., Ishii T., Gao C., Ohtsubo K., Yamaguchi Y., Betsuyaku T., Kida K., Taniguchi N. A single dose of lipopolysaccharide into mice with emphysema mimics human chronic obstructive pulmonary disease exacerbation as assessed by micro-computed tomography. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 49 (6): 971—977. 2014.
- [46] Kozma R. H., Alves E. M., Barbosa-de-Oliveira V. A., Lopes F. D., Guardia R. C., Buzo H. V., Faria C. A., Yamashita C., Cavazzana Junior M., Frei F., Ribeiro-Paes M. J., Ribeiro-Paes J. T. A new experimental model of cigarette smoke-induced emphysema in Wistar rats. *J. Bras. Pneumol.* 40 (1): 46—54. 2014.
- [47] Krüger K., Dischereit G., Seimetz M., Wilhelm J., Weissmann N., Mooren F. C. Time course of cigarette smoke-induced changes of systemic inflammation and muscle structure. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 309 (2): L119—L128. 2015.
- [48] Leberl M., Kratzer A., Taraseviciene-Stewart L. Tobacco smoke induced COPD/ emphysema in the animal model—are we all on the same page? *Front. Physiol.* 15 (4): 91. 2013.
- [49] Lee K. Y., Park S. Y., Park S., Hong G. H., Moon K. A., Kim Y. S., Oh Y. M., Kwon H. S., Kim T. B., Moon H. B., Cho Y. S. Progranulin protects lung epithelial cells from cigarette smoking-induced apoptosis. *Respirology*. 22 (6): 1140—1148. 2017.
- [50] Li Y., Gu C., Xu W., Yan J., Xia Y., Ma Y., Chen C., He X., Tao H. Therapeutic effects of amniotic fluid-derived mesenchymal stromal cells on lung injury in rats with emphysema. *Respir. Res.* 15: 120. 2014.

[51] *Li Y., Li S. Y., Li J. S., Deng L., Tian Y. G., Jiang S. L., Wang Y., Wang Y. Y.* A rat model for stable chronic obstructive pulmonary disease induced by cigarette smoke inhalation and repetitive bacterial infection. *Biol. Pharm. Bull.* 35 (10): 1752—1760. 2012.

[52] *Limjunyawong N., Craig J. M., Lagasse H. A., Scott A. L., Mitzner W.* Experimental progressive emphysema in BALB/cJ mice as a model for chronic alveolar destruction in humans. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 309 (7): L662—L676. 2015.

[53] *Lopes F. D., Toledo A. C., Olivo C. R., Prado C. M., Leick E. A., Medeiros M. C., Santos A. B., Garippo A., Martins M. A., Mauad T.* A comparative study of extracellular matrix remodeling in two murine models of emphysema. *Histol. Histopathol.* 28 (2): 269—276. 2013.

[54] *Mackay A. J., Hurst J. R.* COPD exacerbations: causes, prevention, and treatment. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 33 (1): 95—115. 2013.

[55] *Mahtaj L. G., Feizpour A., Kianmehr M., Soukhtanloo M., Boskabady M. H.* The effect of carvedilol on systemic inflammation in guinea pigs model of COPD induced by cigarette smoke exposure. *Pharmacol. Rep.* 67 (1): 140—145. 2015.

[56] *Malhotra D., Thimmulappa R. K., Mercado N., Ito K., Kombairaju P., Kumar S., Ma J., Feller-Kopman D., Wise R., Barnes P., Biswal S.* Denitrosylation of HDAC2 by targeting Nrf2 restores glucocorticosteroid sensitivity in macrophages from COPD patients. *J. Clin. Invest.* 121 (11): 4289—4302. 2011.

[57] *Mallia P., Johnston S. L.* Mechanisms and experimental models of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *ATS Journals.* 2 (4): 361—366. 2005.

[58] *Massaro G. D., Massaro D.* Retinoic acid treatment partially rescues failed septation in rats and in mice. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 278 (5): L955—L960. 2000.

[59] *Moreno J. A., Ortega-Gomez A., Rubio-Navarro A., Louedec L., Ho-Tin-Noé B., Caligiuri G., Nicoletti A., Levoe A., Plantier L., Meilhac O.* High-density lipoproteins potentiate α 1-antitrypsin therapy in elastase-induced pulmonary emphysema. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 51 (4): 536—549. 2014.

[60] *Morey P., Viadas C., Euba B., Hood D. W., Barberan M., Gil C., Grilló M. J., Bengoechea J. A., Garmendia J.* Relative contributions of lipooligosaccharide inner and outer core modifications to nontypeable *Haemophilus influenzae* pathogenesis. *Infect Immun.* 81 (11): 4100—4111. 2014.

[61] *Nie Y. C., Wu H., Li P. B., Luo Y. L., Zhang C. C., Shen J. G., Su W. W.* Characteristic comparison of three rat models induced by cigarette smoke or combined with LPS: to establish a suitable model for study of airway mucus hypersecretion in chronic obstructive pulmonary disease. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 25 (5): 349—356. 2012.

[62] *Oliveira M. V., Silva P. L., Rocco P. R. M.* Animal models of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations: a review of the current status. *J. Biomedical Sci.* 5: 1. 2016.

[63] *Pang B., Hong W., West-Barnette S. L., Kock N. D., Swords W. E.* Diminished ICAM-1 expression and impaired pulmonary clearance of nontypeable *Haemophilus influenzae* in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease/emphysema. *Infect. Immun.* 76 (11): 4959—4967. 2008.

[64] *Pera T., Zuidhof A., Valadas J., Smit M., Schoemaker R. G., Gosens R., Maarsingh H., Zaagsma J., Meurs H.* Tiotropium inhibits pulmonary inflammation and remodelling in a guinea pig model of COPD. *Eur. Respir. J.* 38 (4): 789—796. 2011.

[65] *Plopper C. G., Hyde D. M.* The non-human primate as a model for studying COPD and asthma. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 21 (5): 755—766. 2008.

[66] *Rangasamy T., Cho C. Y., Thimmulappa R. K., Zhen L., Srisuma S. S., Kensler T. W., Yamamoto M., Petrache I., Tudor R. M., Biswal S.* Genetic ablation of Nrf2 enhances susceptibility to cigarette smoke-induced emphysema in mice. *J. Clin. Invest.* 114 (9): 1248—1259. 2004.

[67] *Ressmeyer A., Larsson A., Vollmer E., Dahlén S. E., Uhlig S., Martin C.* Characterisation of guinea pig precision-cut lung slices: comparison with human tissues. *Eur. Respir. J.* 28 (3): 603—611. 2006.

[68] *Riou M., Carbonnelle S., Avrain L., Mesaros N., Pirnay J. P., Bilocq F., De Vos D., Simon A., Piérard D., Jacobs F., Dediste A., Tulkens P. M., Van Bambeke F., Glupczynski Y.* In vivo development of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from the lower respiratory tract of Intensive Care Unit patients with nosocomial pneumonia and receiving antipseudomonal therapy. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 36 (6): 513—522. 2010.

[69] *Robertoni F. S., Olivo C. R., Lourenço J. D., Gonçalves N. G., Velosa A. P., Lin C. J., Fló C. M., Saraiva-Romanhólo B. M., Sasaki S. D., Martins M. A., Teodoro W. R., Lopes F. D.*

- Collagenase mRNA overexpression and decreased extracellular matrix components are early events in the pathogenesis of emphysema. *PLoS One* 10 (6): e0129590. 2015.
- [70] *Rose J. E., Behm F. M., Murugesan T., McClernon F. J.* Silver acetate interactions with nicotine and non-nicotine smoke components. *Exp. Clin. Psychopharmacol.* 18 (6): 462. 2010.
- [71] *Sandra P., Álvaro G., Germán P.* Animal models of chronic obstructive pulmonary disease. *Arch. Bronconeumologia.* 51 (3): 121—127. 2015.
- [72] *Santos L. M., de Brito Cervilha D. A., Cabral L. D., Garcia É. K., Teixeira V. P., Brito J. M., Moriya H. T., Soncini R.* Bronchial responsiveness in an elastase-induced mouse model of emphysema. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 194: 9—14. 2014.
- [73] *Shapiro S. D.* Animal models for chronic obstructive pulmonary disease age of klotho and marlboro mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 22 (1): 4—7. 2000.
- [74] *Shapiro S. D., Goldstein N. M., Houghton A. M., Kobayashi D. K., Kelley D., Be-laouaj A.* Neutrophil elastase contributes to cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Am. J. Pathol.* 163 (6): 2329—2335. 2003.
- [75] *Shi Z., Chen Y., Cao J., Zeng H., Yang Y., Chen P., Luo H., Peng H., Cai S., Guan C.* Intratracheal transplantation of endothelial progenitor cells attenuates smoking-induced COPD in mice. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 12: 947—960. 2017.
- [76] *Shiomi T., Okada Y., Foronjy R., Schiltz J., Jaenish R., Krane S., D'Armiento J.* Emphysematous changes are caused by degradation of type III collagen in transgenic mice expressing MMP-1. *Exp. Lung Res.* 29 (1): 1—15. 2003.
- [77] *Sohn S.-H., Jang H., Kim Y., Jang Y. P., Cho S.-H., Jung H., Jung S., Bae H.* The effects of Gamijinhae-tang on elastase/lipopolysaccharide-induced lung inflammation in an animal model of acute lung injury. *BMC Complement. Altern. Med.* 13 (1): 176. 2013.
- [78] *Spond J., Billah M. M., Chapman R. W., Egan R. W., Hey J. A., House A., Kreutner W., Minnicozzi M.* The role of neutrophils in LPS-induced changes in pulmonary function in conscious rats. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 17 (3): 133—140. 2004.
- [79] *Stevens T., Ekholm K., Granse M., Lindahl M., Kozma V., Jungar C., Ottosson T., Falk-Håkansson H., Churg A., Wright J.L., Lal H., Sanfridson A.* AZD9668: pharmacological characterization of a novel oral inhibitor of neutrophil elastase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 339 (1): 313—320. 2014.
- [80] *Stockley R. A., Mannino D., Barnes P. J.* Burden and pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 6 (6): 524—526. 2009.
- [81] *Suki B., Jesudason R., Sato S., Parameswaran H., Araujo A. D., Majumdar A., Allen P. G., Bartolák-Suki E.* Mechanical failure, stress redistribution, elastase activity and binding site availability on elastin during the progression of emphysema. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 25 (4): 268—275. 2012.
- [82] *Suki B., Bartolák-Suki E., Rocco P. R. M.* Elastase-induced lung emphysema models in mice. *Methods Mol. Biol.* 1639: 67—75. 2017.
- [83] *Szabari M.V., Parameswaran H., Sato S., Hantos Z., Bartolák-Suki E., Suki B.* Acute mechanical forces cause deterioration in lung structure and function in elastase-induced emphysema. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 303 (7): 567—574. 2012.
- [84] *Sze M. A., Dimitriu P. A., Suzuki M., McDonough J. E., Campbell J. D., Brothers J. F., Erb-Downward J. R., Huffnagle G. B., Hayashi S., Elliott W. M., Cooper J., Sin D. D., Lenburg M. E., Spira A., Mohn W. W., Hogg J. C.* Host response to the lung microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 192 (4): 438—445. 2015.
- [85] *Szulakowski P., Crowther A. J., Jiménez L. A., Donaldson K., Mayer R., Leonard T. B., MacNee W., Drost E. M.* The effect of smoking on the transcriptional regulation of lung inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 174 (1): 41—50. 2006.
- [86] *Tanabe N., Vasilescu D. M., McDonough J. E., Kinose D., Suzuki M., Cooper J. D., Paré P. D., Hogg J. C.* Micro-computed tomography comparison of preterminal bronchioles in centrilobular and panlobular emphysema. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 195 (5): 630—638. 2017.
- [87] *Tang K., Wagner P. D., Breen E. C.* TNF-alpha-mediated reduction in PGC-1alpha may impair skeletal muscle function after cigarette smoke exposure. *J. Cell Physiol.* 222 (2): 320—327. 2010.
- [88] *Taraseviciene-Stewart L., Scerbavicius R., Choe K. H., Moore M., Sullivan A., Nicolls M. R., Fontenot A. P., Tuder R. M., Voelkel N. F.* An animal model of autoimmune emphysema. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 171 (7): 734—742. 2005.

- [89] Tetsumoto S., Takeda Y., Imai H., Kimura A., Jin Y., Nakanishi K., Maeda Y., Kuhara H., Tsujino K., Iwasaki T., Shigeta H., Kondo Y., Ito M., Minami T., Hirata H., Takahashi R., Kohmo S., Nagatomo I., Inoue K., Kida H., Kijima T., Tachibana I., Maeda N., Funahashi T., Shimomura I., Fujiwara H., Kumanogoh A. Validation of noninvasive morphological and diffusion imaging in mouse emphysema by micro-computed tomography and hyperpolarized (129)Xe magnetic resonance imaging. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 49 (4): 592—600. 2013.
- [90] Vecchiola A., de la Llera J. F., Ramírez R., Olmos P., Herrera C. I., Borzone G. Differences in acute lung response to elastase instillation in two rodent species may determine differences in severity of emphysema development. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 301 (1): R148—R158. 2011.
- [91] Vlahos R., Bozinovski S. Recent advances in pre-clinical mouse models of COPD. *Clin. Sci.* 126 (4): 253—265. 2014.
- [92] Voss M., Wonnenberg B., Honecker A., Kamyschnikow A., Herr C., Bischoff M., Tschernig T., Bals R., Beisswenger C. Cigarette smoke-promoted acquisition of bacterial pathogens in the upper respiratory tract leads to enhanced inflammation in mice. *Respir. Res.* 16: 41. 2015.
- [93] Wang D., Wang Y., Liu Y. N. Experimental pulmonary infection and colonization of *Haemophilus influenzae* in emphysematous hamsters. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 23 (4): 292—299. 2010.
- [94] Wang Z., Zheng T., Zhu Z., Homer R. J., Riese R. J., Chapman H. A., Shapiro S. D., Elias J. A. Interferon γ induction of pulmonary emphysema in the adult murine lung. *J. Exp. Med.* 192 (11): 1587—1600. 2000.
- [95] Wright J. L., Churg A. Animal models of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Expert. Rev. Respir. Med.* 4 (6): 723—734. 2010.
- [96] Zheng H., Liu Y., Huang T., Fang Z., Li G., He S. Development and characterization of a rat model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) induced by sidestream cigarette smoke. *Toxicol. Lett.* 189 (3): 225—234. 2009.

Поступила 30 I 2018