

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2022-15-1-10-19>

Применение ксеногенного фракционированного протеомного секрета стволовых и прогениторных клеток при остром ишемическом повреждении почек в эксперименте

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

В.И. Кирпатовский¹, А.В. Сивков¹, Г.Д. Ефремов¹, С.И. Самойлова¹, Е.В. Фролова², О.И. Аполихин¹

¹ НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; д. 51, 3-я Парковая ул., Москва, 105425, Россия

² ФГБУ Всероссийский институт научной и технической информации Российской академии наук (ВИНИТИ РАН); д. 20, ул. Усиевича, Москва, 125190, Россия

Контакт: Кирпатовский Владимир Игоревич, vladkirp@yandex.ru

Аннотация:

Введение. В настоящее время широко исследуются возможности клеточной терапии с использованием стволовых клеток для коррекции функциональных нарушений органов, в том числе почек. Основными механизмом действия стволовых клеток считают активацию клеточной регенерации и ингибирование апоптоза продуктами их секреции (секретомом), что заставляет изучать механизмы действия секрета стволовых клеток.

Цель исследования. Изучить связь нефропротективного действия препарата, представляющего собой белково-пептидный секрет эмбриональных клеток головного мозга (СЭСК), с его влиянием на регенерацию поврежденных ишемией клеток почки и активность их апоптоза.

Материал и методы. Опыты проведены на 40 беспородных крысах-самцах массой 280-320 г. Острое повреждение почки различной степени вызывали удалением правой почки и ишемией оставшейся левой почки в течение 60 минут или 90 минут (по 20 крыс в группе). В каждой из этих групп 10 крысам ежедневно подкожно вводили СЭСК в дозе 0,1 мл/кг (10 инъекций), а другим 10 крысам терапии не проводили. Через 3, 7 и 14 дней удаляли ишемизированную почку и подвергали ее гистологическому исследованию и гистохимическому определению экспрессии маркера пролиферации Ki-67 и антиапоптотического белка Bcl-2 в структурах почки.

Результаты. При терапии СЭСК уже на 3-и сутки выявляли до 20% гипертрофированных почечных клубочков при отсутствии клубочков с явлением гломерулосклероза, тогда как в контрольных опытах на этом сроке гипертрофированные клубочки не выявлялись, а доля клубочков с признаками гломерулосклероза составляла 5-10%. На 7-е и 14-е сутки в обеих группах доля гипертрофированных клубочков возрастала, сравниваясь в группе с 60-минутной ишемией, но сохраняя более высокие значения в опытах с 90-минутной ишемией и терапией СЭСК по сравнению с контролем. Клубочки в состоянии гломерулосклероза достоверно реже выявлялись при терапии СЭСК, в независимости от выраженности ишемического повреждения. При этом экспрессия Bcl-2 в клетках почечных клубочков при терапии СЭСК снижалась существенно в меньшей степени, чем в контрольных опытах, подтверждая взаимосвязь ингибирования апоптоза при терапии СЭСК с торможением развития склеротических процессов. В почечных канальцах при терапии СЭСК уже на 3-и сутки выявили значительное увеличение количества эпителиальных клеток, экспрессирующих маркер пролиферации Ki-67, с последующим постепенным уменьшением их количества, тогда как в контроле увеличение количества меченых клеток происходило лишь на 7-е и 14-е сутки. При увеличении выраженности ишемического повреждения стимулирующий пролиферацию эффект СЭСК пролонгировался до 14 суток. Проллиферативный эффект терапии СЭСК сопровождался уменьшением повреждения почечных канальцев, причем процент канальцев с некротизированным эпителием с увеличением срока после начала терапии (7 и 14 дней) прогрессивно уменьшался с 3-5% до 0-1%, свидетельствуя о регенерации эпителия, тогда как в контроле их доля сохранялась на более высоком уровне.

Заключение. В нефропротективном эффекте СЭСК (препарата Целлекс), как и у стволовых клеток, существенную роль играет стимуляция клеточной пролиферации и ингибирование апоптоза поврежденных клеток.

Ключевые слова: острое повреждение почек; клеточная терапия; секретом стволовых клеток; пролиферация клеток; апоптоз.

Для цитирования: Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Ефремов Г.Д., Самойлова С.И., Фролова Е.В., Аполихин О.И. Применение ксеногенного фракционированного протеомного секрета стволовых и прогениторных клеток при остром ишемическом повреждении почек в эксперименте. Экспериментальная и клиническая урология 2022;15(1):10-19; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2022-15-1-10-19>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2022-15-1-10-19>

Experimental application of xenogenic fractionated proteomic secretome of stem and progenitor cells in acute ischemic kidney injury

EXPERIMENTAL STUDY

V.I. Kirpatovskiy¹, A.V. Sivkov¹, G.D. Efremov¹, S.I. Samoiloval¹, E.V. Frolova², O.I. Apolikhin¹

¹ N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – branch of the National Medical Research Centre of Radiology of Ministry of health of Russian Federation; 51, 3rd Parkovaya st., Moscow, 105425, Russia

² All-Russian Institute of Scientific and Technical Information of RAS; bld. 20, Usievich st., Moscow, 125315, Russia

Contacts: Vladimir I. Kirpatovskiy, vladkirp@yandex.ru

Summary:

Introduction. Currently, the possibilities of cell therapy using stem cells for the correction of functional disorders of organs, including kidneys, are being widely investigated. The main mechanism of action of stem cells is considered to be the activation of cellular regeneration and the inhibition of apoptosis by the products of their secretion (secretome), which makes it necessary to study the mechanisms of action of the stem cells secretome.

Aim of study. To study the relationship of the nephroprotective effect of the drug, which is a protein-peptide secretome of embryonic brain cells (SESC), with its effect on the regeneration of kidney cells damaged by ischemia and the activity of their apoptosis.

Material and methods. Experiments were carried out on 40 mongrel male rats weighing 280-320 g. Acute kidney injury of varying severity was caused by removal of the right kidney and ischemia of the remaining left kidney for 60 minutes or 90 minutes (20 rats per group). In each of these groups, 10 rats were injected daily subcutaneously with SESC at a dose of 0.1 ml/kg (10 injections), and the other 10 rats were not treated. After 3, 7 and 14 days, the ischemic kidney was removed and subjected to histological examination and histochemical determination of the expression of the proliferation marker Ki-67 and the anti-apoptotic protein Bcl-2 in the kidney structures.

Results. In the treatment of SESC, up to 20% of hypertrophied renal glomeruli were detected already on the 3rd day in the absence of glomeruli with glomerulosclerosis, whereas in control experiments at this time hypertrophied glomeruli were not detected, and the proportion of glomeruli with signs of glomerulosclerosis was 5-10%. On the 7th and 14th days in both groups, the proportion of hypertrophied glomeruli increased, being compared in the group with 60-minute ischemia, but maintaining higher values in experiments with 90-minute ischemia and SESC therapy compared with the control. Glomeruli with glomerulosclerosis were significantly less frequently detected in the treatment of SESC, regardless of the severity of ischemic damage. At the same time, the expression of Bcl-2 in renal glomerular cells during SESC therapy decreased significantly to a lesser extent than in control experiments, confirming the relationship of inhibition of apoptosis during SESC therapy with inhibition of the development of sclerotic processes. A significant increase in the number of epithelial cells expressing the proliferation marker Ki-67 on the 3rd day, followed by a gradual decrease in their number, was detected in the renal tubules during SESC therapy, whereas in the control an increase in the number of labeled cells occurred only on the 7th and 14th days. With an increase in the severity of ischemic damage, the proliferation-stimulating effect of SESC was prolonged up to 14 days. The proliferative effect of SESC therapy was accompanied by a decrease in damage to the renal tubules, and the percentage of tubules with necrotic epithelium progressively decreased from 3-5% to 0-1% with an increase in the period after the start of therapy (7 and 14 days), indicating epithelial regeneration, while in the control their proportion remained at a higher level.

Conclusion. Stimulation of cell proliferation and inhibition of apoptosis of damaged cells play an essential role in the nephroprotective effect of SESC, as in stem cells.

Key words: acute kidney injury; cell therapy; stem cell secretome; cell proliferation; apoptosis.

For citation: Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Efremov G.D., Samoilova S.I., Frolova E.V., Apolikhin O.I. Experimental application of xenogenic fractionated proteomic secretome of stem and progenitor cells in acute ischemic kidney injury. *Experimental and Clinical Urology*, 2022;15(1):10-19; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2022-15-1-10-19>

ВВЕДЕНИЕ

Острое повреждение почек (ОПП) с развитием острой почечной недостаточности (ОПН) является серьезным и часто жизнеугрожающим осложнением хирургических операций, тяжелых инфекционных осложнений или интоксикаций [1-3]. Повреждение почек может быть необратимым или функция органа может полностью или частично восстановиться в зависимости от интенсивности повреждающего фактора и возможности регенерации поврежденных клеточных структур. Основными факторами, влияющими на полную восстановления функции поврежденных почек, считается стойкое ухудшение микроциркуляции с развитием тканевой гипоксии и дисфункцией митохондрий, ведущие как к повреждению клубочков, так и канальцевого аппарата почки, а также остановка клеточного цикла и старение эпителиальных клеток почечных канальцев с изменением фенотипов и функций резидентных клеток почек, что приводит к уменьшению регенераторного потенциала клеток и усилению их апоптоза, приводящих развитию фиброза почек [3-6].

Восстановление функции почек при ОПН приобретает все большее значение, поскольку мероприятия по профилактике или лечению ОПП ограничены [7]. По мнению S. Kumar и соавт. ключевым фактором терапии ОПП является разработка стратегии усиления эндогенных процессов восстановления поврежденных почечных структур и замедления профибротических реакций, развивающихся в результате неэффективной регенерации клеток [8]. В этом плане перспективным направлением является использование клеточных технологий с трансплантацией низкокодифференцированных стволовых/прогениторных клеток (СК),

выделенных из различных источников (костного мозга, жировой ткани, пульпы зуба, пупочного канатика, амниотической жидкости), или введением продуктов их секреции. (так называемая бесклеточная терапия), основой которой является применение комплекса биоактивных продуктов секреции СК (секретомы СК – СЭСК), изготовленных на основе кондиционированной среды культивирования СК или экстракта из эмбриональных или плодных тканей [3, 9-13]. Показано, что содержащиеся в СЭСК белки, пептиды, РНК, в том числе микроРНК и липидные медиаторы возможно выделять, концентрировать, замораживать и лиофилизировать без потери их биологической активности [12, 14].

Данные литературы свидетельствуют, что такая терапия способствует уменьшению выраженности функциональных расстройств и ускорению восстановления функциональной полноценности почек после их ишемического или токсического повреждения [3, 15-18]. При этом многие авторы отмечают, что нефропротективное действие такой терапии связано как с активацией сигнальных путей, способствующих регенерации клеток, так и с ингибированием апоптоза поврежденных клеток [9, 16, 19-23].

К такому типу препаратов относится препарат Целлекс® (АО «Фарм-Синтез», Россия), являющийся хроматографически выделенным белково-пептидным комплексом эмбриональной ткани головного мозга свиней. В ранее проведенных исследованиях нами было показано, что терапия крыс с острой постишемической ОПН препаратом Целлекс уменьшает выраженность функциональных расстройств и морфологических нарушений после ишемического повреждения почки разной степени выраженности [24]. Как при умеренно выраженной, так и при резко выраженной ОПН, которая вызывалась ишемией единственной почки в

течение 60 или 90 минут соответственно, терапия СЭСК способствовала сохранению величины клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции натрия и кальция на нормальном или субнормальном уровне, что было особенно выражено на ранних сроках после развития ишемического повреждения (3 суток) и при более тяжелой ОПН.

Данное исследование посвящено изучению вопроса, связано ли терапевтическое действие СЭСК с его влиянием на активность регенерации поврежденных в результате ишемии клеток и их апоптоза, как основных потенциальных механизмов репаративной регенерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 40 самцах белых беспородных крыс массой 280-320 г. Наркоз осуществляли внутрибрюшинным введением смеси препаратов Золетил и Ксилавет в соотношении 1:1 при расчетной дозе Золетила 15 мг/кг. Постишемическую ОПН разной степени выраженности вызывали удалением правой почки и пережатием сосудистой ножки левой почки на 60 минут (умеренная ОПН) или 90 минут (тяжелая ОПН), как описано ранее [24]. В контрольных опытах (1-я и 2-я серии соответственно, по 10 крыс в серии) терапии не проводили, а в опытных сериях (3-я и 4-я серии соответственно, по 10 крыс в серии) ежедневно вводили препарат СЭСК подкожно в дозе 0,1 мл/кг массы тела (0,1 мг/кг активного вещества) 5 дней в неделю, всего 10 инъекций.

Через 3, 7 и 14 дней удаляли ишемизированную почку и исследовали гистологически и путем проведения гистохимического анализа. Для оценки выраженности морфологических изменений изготовленные по стандартной методике срезы почки окрашивали гематоксилином и эозином. Для количественной оценки морфометрических показателей использовали программу NistoScan. Оцифрованные изображения загружали в программу с последующим количественным определением диаметра клубочков. К гипертрофированным клубочкам относили те клубочки диаметр которых превышал максимальные значения, характерные для интактной почки. В качестве маркера активности клеточной регенерации использовали выраженность экспрессии фактора Ki-67, а маркером активности процессов апоптоза служила экспрессия антиапоптогического фактора Bcl-2, определяемых иммуно-гистохимически на автоматическом иммуногистостейнере Ventana Ultra. Использовали моноклональные антитела, готовые к употреблению (RTU) к Ki-67 (клон SP66, фирмы Roche) и к Bcl-2 (клон 30-9, фирмы Roche).

Статистическую обработку цифровых данных проводили с помощью программ MS Excel и Statistica 6.0. Определяли средние значения показателей в группах и ошибку средней ($M \pm m$), для определения достоверности различий между группами использовали критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфометрический анализ гистологических срезов показал, что в опытах с терапией СЭСК уже на 3-и сутки после ишемического воздействия разной степени выраженности (60 или 90 минут) выявляли до 20% гипертрофированных клубочков от общего количества клубочков в препарате (рис. 1А), тогда как в контрольных сериях при этом сроке исследования их не выявляли (рис. 1Б, В). При увеличении срока наблюдения до 7 и 14 суток в опытах с 60-минутной ишемией различия между опытной и контрольной сериями исчезали, тогда как в опытах с тяжелой ОПН (90 минутная ишемия) доля гипертрофиро-

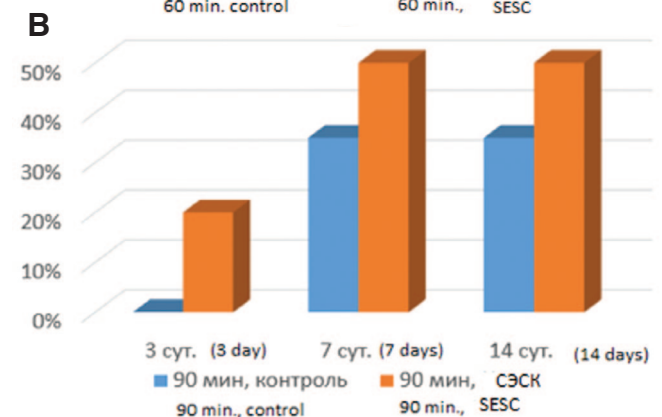
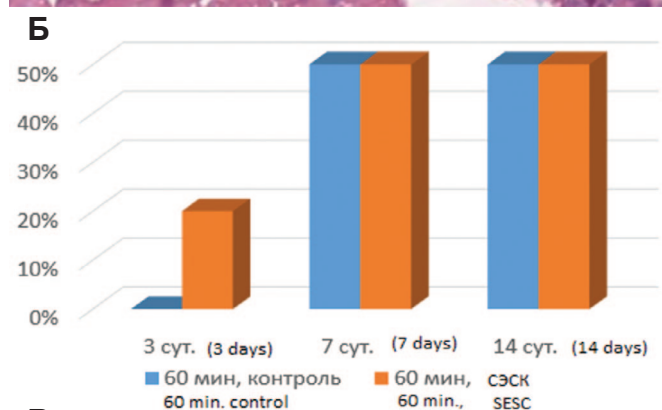
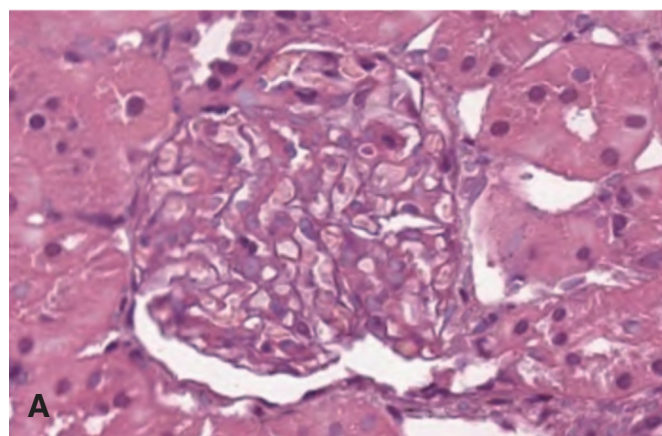


Рис. 1. А – гипертрофированный клубочек. 3 суток после 60-минутной ишемии, терапия СЭСК. Окраска гематоксилином и эозином. х 200. Б – влияние терапии СЭСК на долю гипертрофированных клубочков (% в препарате) в опытах с 60-минутной ишемией. В – влияние терапии СЭСК на долю гипертрофированных клубочков (% в препарате) в опытах с 90-минутной ишемией

Fig. 1. А – hypertrophied glomerulus. 3 days after 60-minute ischemia, SESC therapy. H&E x 200. Б – the effect of SESC therapy on the proportion of hypertrophied glomeruli (% in the preparation) in experiments with 60-minute ischemia. В – the effect of SESC therapy on the proportion of hypertrophied glomeruli (% in the preparation) in experiments with 90-minute ischemia

ванных клубочков в опытной серии постоянно превышала значения контрольной группы опытов.

В то же время резко измененные клубочки с явлениями гломерулосклероза (рис. 2А) в опытах с терапией СЭСК в ранние сроки (3 суток) после 60-минутной ишемии не выявлялись, а после 90 минут ишемии составляли всего 5%, тогда как в контрольных сериях их доля составляла 5% и 10% соответственно (рис. 2Б, В). В более отдаленные сроки различия между опытными и контрольными сериями сохранялись с преобладанием развития гломерулосклероза в обеих контрольных сериях. Более того, в опытах с 60-минутной ишемией и терапией СЭСК через 14 суток отмечали уменьшение доли клубочков с яв-

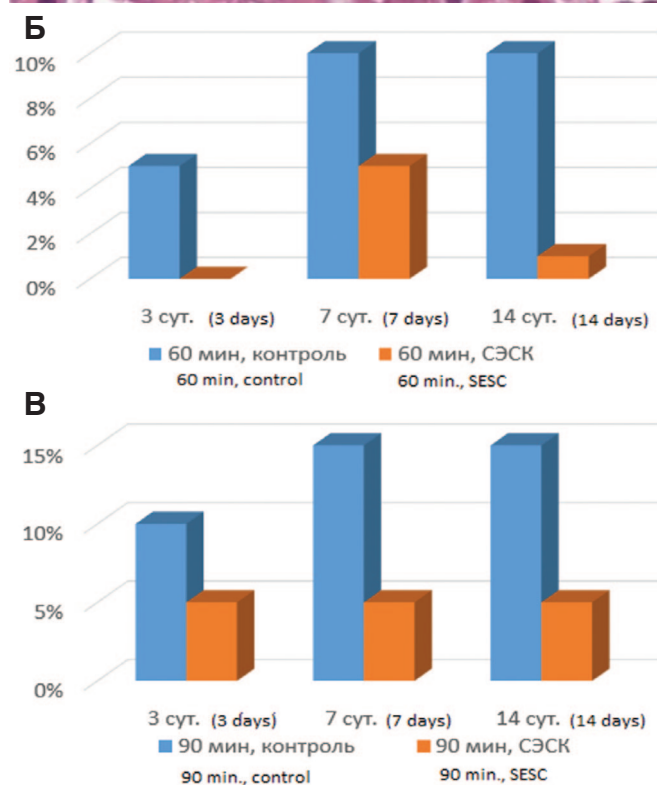
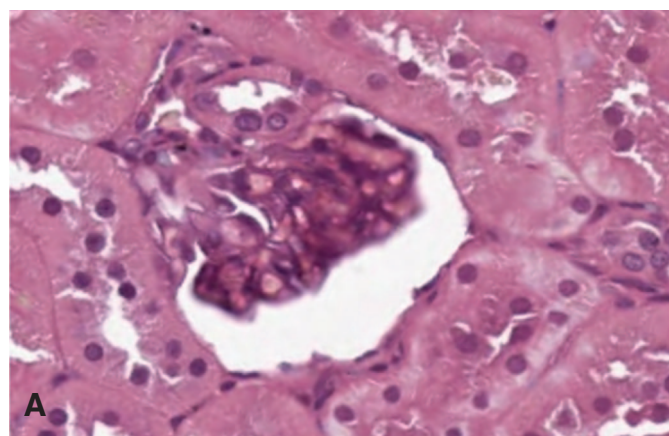


Рис. 2. А – Коллабированный клубочек с явлениями гломерулосклероза. 3 суток после 60-минутной ишемии, контрольная серия. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200х. Б – влияние терапии СЭСК на долю клубочков с гломерулосклерозом (% в препарате) в опытах с 60-минутной ишемией. В – влияние терапии СЭСК на долю клубочков с гломерулосклерозом (% в препарате) в опытах с 90-минутной ишемией
Fig. 2. A – A collapsed glomerulus with the phenomena of glomerulosclerosis. 3 days after 60-minute ischemia, control series. H&E x 200. Б – the effect of SESC therapy on the proportion of glomeruli with glomerulosclerosis (% in the preparation) in experiments with 60-minute ischemia. В – the effect of SESC therapy on the proportion of glomeruli with glomerulosclerosis (% in the preparation) in experiments with 90-minute ischemia

ниями гломерулосклероза до минимальных значений, а при более тяжелой ОПН (90 минутная ишемия) их доля с увеличением срока наблюдения оставалась стабильной, составляя 5%, тогда как в контрольных опытах через 7 суток доля поврежденных клубочков возрастала до 10-15% и сохранялась на этом уровне до 14 суток.

Терапия СЭСК способствовала также уменьшению степени повреждения почечных канальцев. В обеих контрольных сериях наблюдалась массивная гиалиново-капельная дистрофия эпителия почечных канальцев (в 40-45% канальцев) с полным некрозом эпителиальной выстилки в 5% канальцев при 60-минутной ишемии и 15% канальцев при 90-минутной ишемии (рис. 3А). В обеих опытных

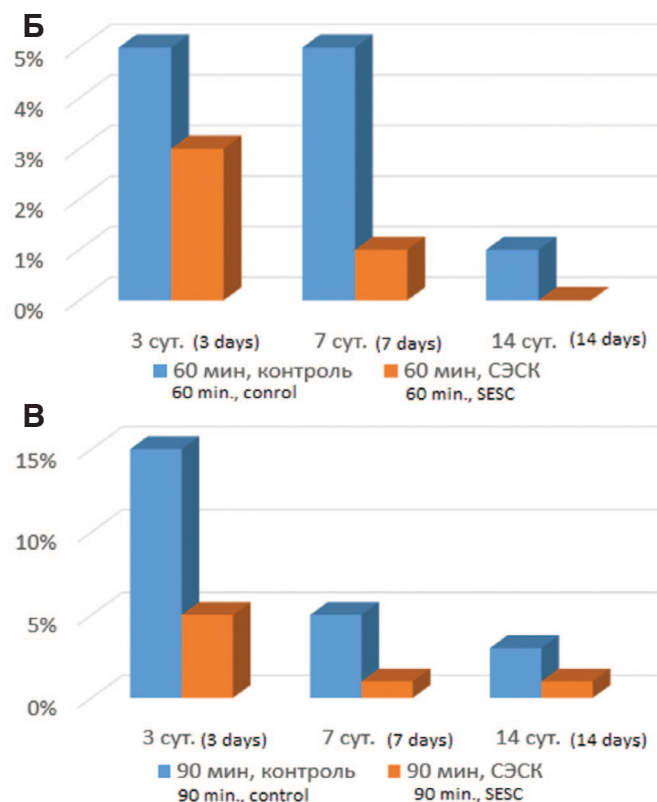
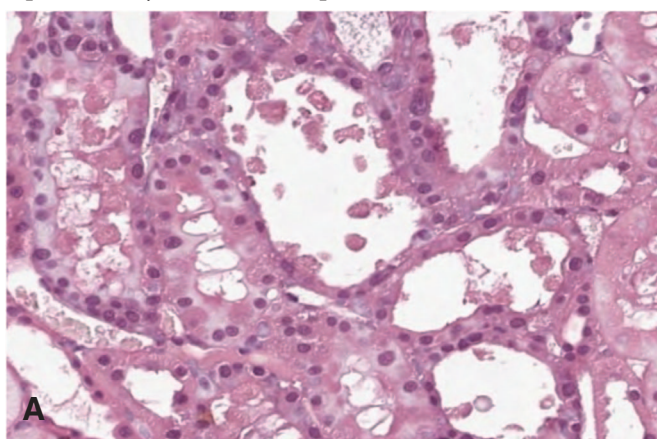


Рис. 3. А – почечные канальцы в состоянии резко выраженной дистрофии и некроза эпителия. 3 суток после 90-минутной ишемии, контроль. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200х. Б – влияние терапии СЭСК на долю некротизированных почечных канальцев в опытах с 60-минутной ишемией. В – влияние терапии СЭСК на долю некротизированных почечных канальцев при 90-минутной ишемии
Fig. 3. А – renal tubules in a state of pronounced dystrophy and necrosis of the epithelium. 3 days after 90-minute ischemia, control. H&E x 200. Б – the effect of SESC therapy on the proportion of necrotized renal tubules in experiments with 60-minute ischemia. В – the effect of SESC therapy on the proportion of necrotized renal tubules in 90-minute ischemia

сериях доля канальцев с некротизированным эпителием была меньше при всех сроках наблюдения, хотя различия через 14 суток после ишемического воздействия сглаживались (рис. 3Б, В).

Из этих данных можно заключить, что терапевтическое действие СЭСК в отношении уменьшения повреждения почечных клубочков и почечных канальцев реализуется преимущественно на ранних стадиях репаративного процесса, способствуя регенерации почечных структур и уменьшению склеротических процессов.

Для подтверждения способности СЭСК активировать регенерацию клеток почки мы изучили влияние препарата на экспрессию маркера клеточной пролиферации Ki-67 в структурах почки при разной выраженности ишемического повреждения. Исследование показало, что если в норме экспрессия этого маркера выявляется лишь в ядрах единичных эпителиальных клеток почечных канальцев, то после ишемического воздействия 60-минутной длительности в условиях терапии СЭСК количество клеток, экспрессирующих Ki-67, через 3 суток возрастает (рис. 4А), но через 7 и 14 дней экспрессия Ki-67 в ядрах клеток практически исчезает (рис. 4В). В контрольной серии выявляется обратная динамика – через 3 суток экспрессия Ki-67 выявляется в ядрах единичных клеток, (рис. 4Б), а через 7 и 14 дней количество клеток, экспрессирующих этот маркер, возрастает (рис. 4Г). В почечных клубочках в обеих сериях меченые клетки практически не выявлялись.

В опытах с более тяжелой ОПН (90 минут ишемии) и терапией СЭСК высокая пропорция клеток, экспрессирующих Ki-67 в эпителии почечных канальцев сохраняется до 14 суток после ишемического воздействия, тогда как в контрольной серии доля этих клеток была существенно ниже. В клетках почечных клубочков при терапии СЭСК выявлялись единичные клетки, экспрессирующие Ki-67, тогда как в контрольных опытах экспрессия этого маркера в клетках клубочков не выявлялась (рис. 5).

Таким образом, более быстрое восстановление функционального состояния ишемизированной почки на фоне терапии СЭСК может быть обусловлено стимуляцией регенерации эпителиальных клеток поврежденных почечных канальцев, особенно на ранних сроках после ишемического воздействия. При этом мы отметили, что продолжительность активации клеточной регенерации при терапии СЭСК была пропорциональна выраженности действия повреждающего фактора: в опытах с 60-минутной ишемией она была максимальна в первые 3 суток после развития повреждения, уменьшалась к 7-м суткам и практически исчезала через 14 суток, тогда как после 90-минутной ишемии, стимулирующий эффект сохранялся до конца периода наблюдения.

Поскольку мы не выявили существенной активации регенерации клеток почечных клубочков под влиянием терапии СЭСК (в отличие от почечных канальцев) мы изучили влияние этого препарата на апоптоз клеток,

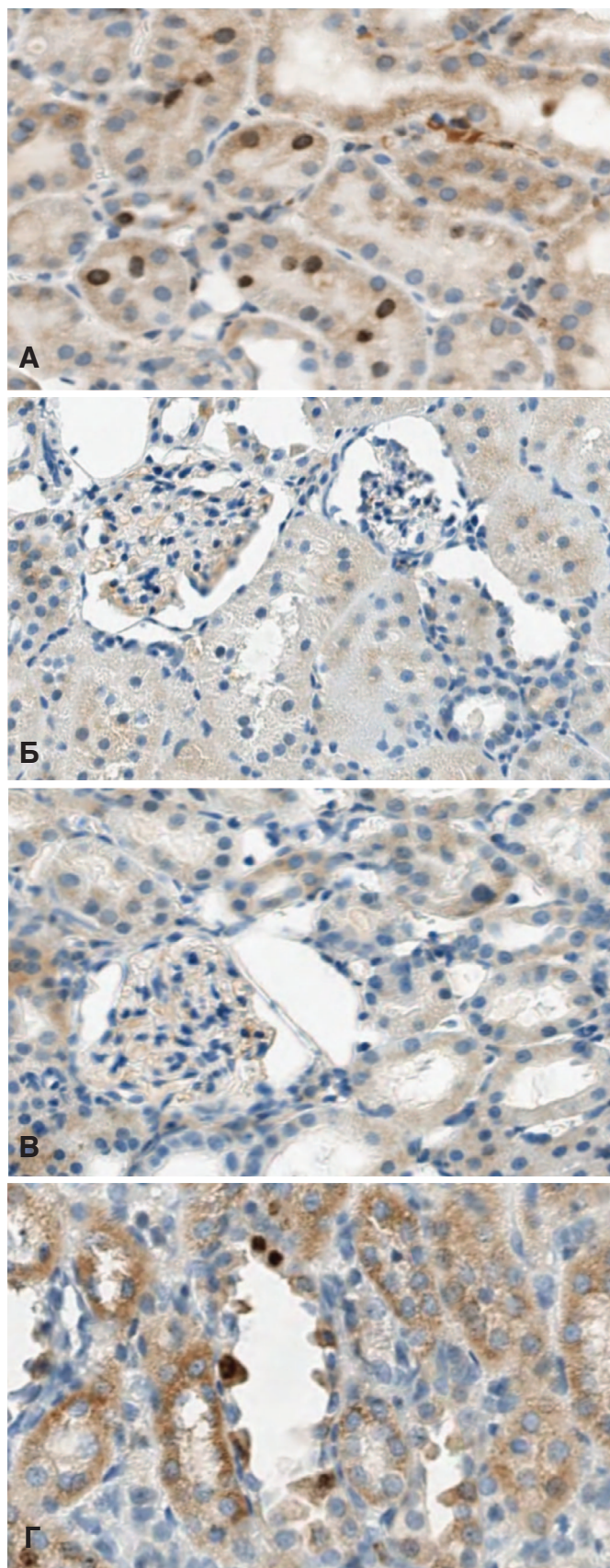


Рис. 4. Влияние терапии СЭСК на экспрессию Ki-67 в клетках почки при умеренно выраженной ОПН. А – 60 минут ишемии, 3 сутки, терапия СЭСК. Б – 60 минут ишемии, 3 сутки, контроль. В – 60 минут ишемии, 14 суток, терапия СЭСК, Г – 60 минут ишемии, 14 суток, контроль. x 200
Fig. 4. The effect of SESC therapy on the expression of Ki-67 in kidney cells with moderate acute renal failure. А – 60 minutes of ischemia, 3 days, SESC therapy. Uv.200x. В – 60 minutes of ischemia, 3 days, control. Uv.100x. С – 60 minutes of ischemia, 14 days, SESC therapy, D – 60 minutes of ischemia, 14 days, control. x 200

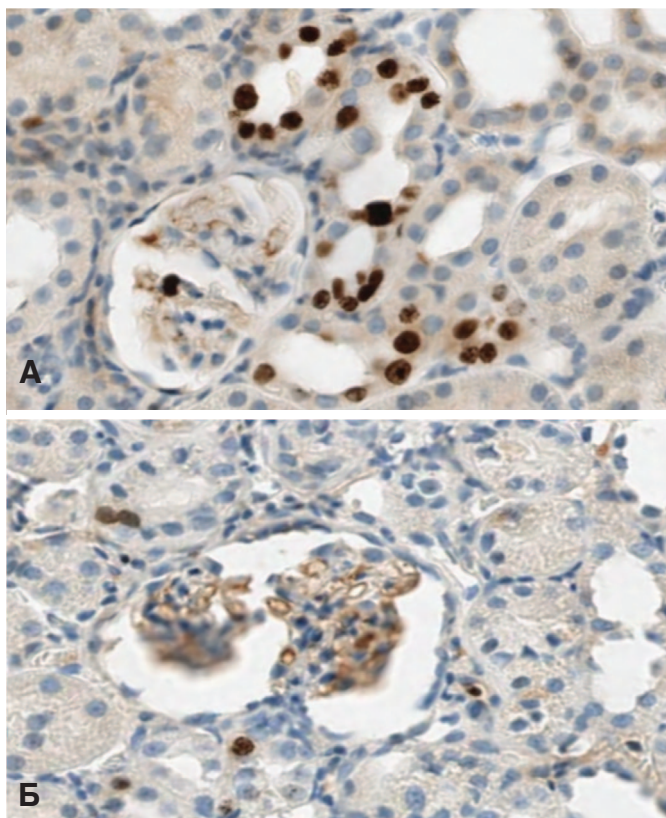


Рис. 5. Влияние терапии СЭСК на экспрессию Ki-67 в клетках почки при тяжелой ОПН. А – 90 минут ишемии, 14 суток, терапия СЭСК. Окраска гематоксилином и эозином и на Ki-67. Ув. 200х. Б – 90 минут ишемии, 14 суток, контроль. Окраска гематоксилином и эозином и на Ki-67. x 100
 Fig. 5. The effect of SESC therapy on Ki-67 expression in kidney cells in severe acute renal failure. A – 90 minutes of ischemia, 14 days, SESC therapy. Staining with hematoxylin and eosin and on Ki-67. Uv. 200x. Б – 90 minutes of ischemia, 14 days, control. Staining with hematoxylin and eosin and on Ki-67. x 100

активность которого играет существенную роль в функциональных последствиях острого повреждения органов. С этой целью мы изучили влияние СЭСК на экспрессию маркера антиапоптоза Bcl-2 в структурах почки, подвергнутой ишемии различной длительности, на фоне терапии СЭСК и без терапии.

В интактной почке клетки большинства почечных клубочков (до 80%) экспрессировали Bcl-2. После ишемического воздействия количество Bcl-2-позитивных клубочков в обеих группах значительно снижалось, но более выражено (через 3 и 7 суток после ишемии) в контрольной серии опытов (рис. 6). Через 14 суток процент Bcl-2-позитивных клубочков в опытной и контрольной группах сравнялся.

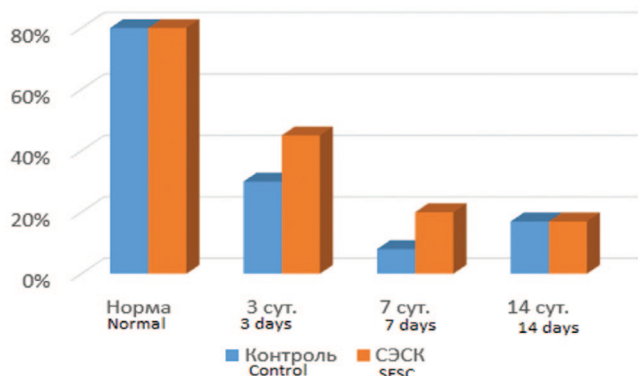


Рис. 6. Влияние терапии СЭСК на долю почечных клубочков, экспрессирующих Bcl-2
 Fig. 6. The effect of SESC therapy on the proportion of glomeruli that extract Bcl-2

тивных клубочков в опытной и контрольной группах сравнялся.

При этом на фоне терапии СЭСК через 3 и 7 суток после 60-минутной ишемии отмечали не только большее количество Bcl-2-позитивных клубочков, но и более выраженную экспрессию этого маркера (рис. 7А, Б). К 14 суткам различия между сериями сглаживались.

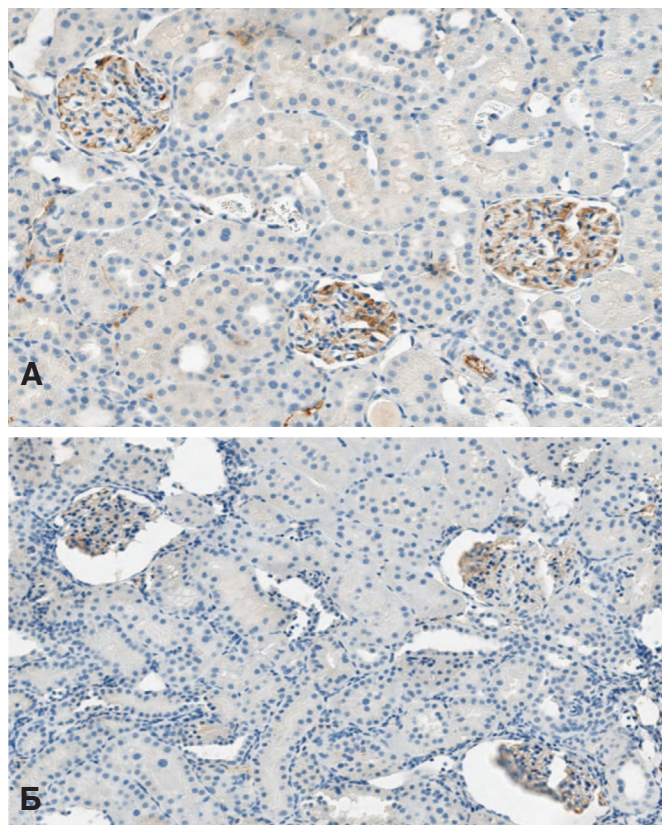


Рис. 7. Экспрессия Bcl-2 в клубочках после 60-минутной ишемии при терапии СЭСК (А) и без терапии (Б) на 3-и сутки после ишемии. x 100
 Fig. 7. Bcl-2 expression in glomeruli after 60-minute ischemia with SESC therapy (A) and without therapy (B) on the 3rd day after ischemia. x 100

В опытах с 90-минутной ишемией более высокая экспрессия Bcl-2 сохранялась до 14 суток после ишемического воздействия (рис. 8).

Эти данные свидетельствуют, что под действием терапии СЭСК степень активации апоптоза поврежденных клеток уменьшается как при средней степени выраженности ОПН, так и при тяжелом повреждении почек, что способствует сохранению функционально активной паренхимы органа и препятствует развитию нефросклероза.

Важно отметить, что преобладающее количество меченых Bcl-2 клеток выявляли в почечных клубочках, что позволяет предполагать, что уменьшение гломерулосклероза при терапии СЭСК обусловлено именно за счет сохранения активности антиапоптотических сигнальных путей, препятствующих гибели клеток и их замещению соединительной тканью.

Обобщая полученные данные, можно предположить, что предотвращение выраженных функциональных расстройств при терапии СЭСК в отношении сохранения функции клубочков и канальцев реализуются разными путями. Если в отношении канальцевого эпителия,

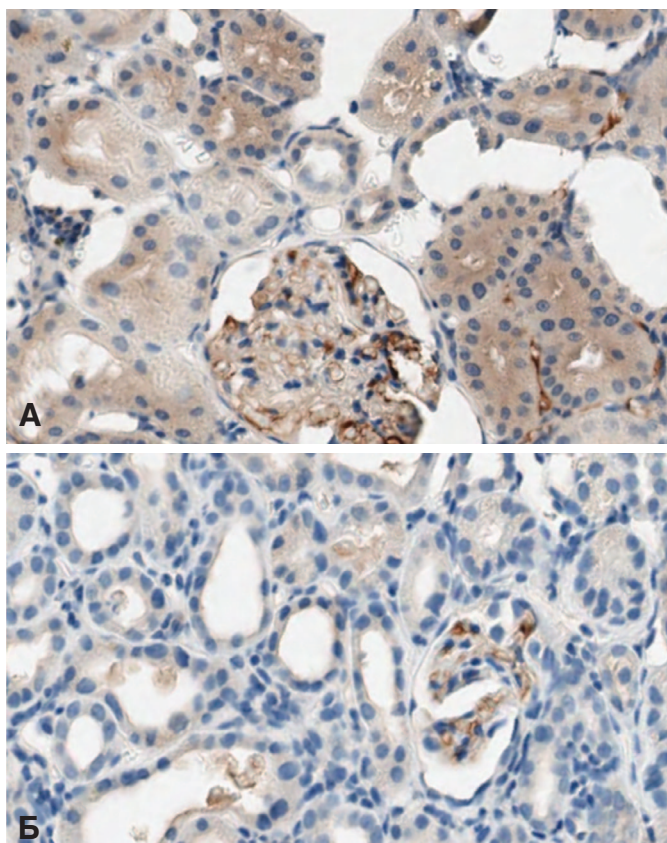


Рис. 8. Экспрессия Bcl-2 в структурах почки через 14 суток после 90-минутной ишемии. А – терапия СЭСК, Б – контроль
Fig. 8. Bcl-2 expression in kidney structures 14 days after 90-minute ischemia. A – SESC therapy, B – control

потенциально обладающего регенераторным потенциалом, основным механизмом является его стимуляция путем активации генома, маркером чего является повышение экспрессии Ki-67, то в отношении клубочковых клеток их защита реализуется путем подавления процессов апоптоза, на что указывает более высокая экспрессия Bcl-2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исход патологического процесса после развития ОПП определяется балансом между гибелью функционально активных клеток и активностью процессов регенерации поврежденных клеточных структур [1, 2, 8]. В случае преобладания деструктивных процессов возникает риск перехода острого повреждения в хроническую болезнь почек, что доказано, как в экспериментальных исследованиях, так и в клинических наблюдениях, причем хроническая форма может развиваться через некоторое время после восстановления функции почки после острого повреждения [2, 5, 6, 25, 26].

Для восстановления функции почек после ОПП по мнению Н. Fattah и соавт. жизненно важно восстановление канальцев, что также обеспечивает улучшение скорости клубочковой фильтрации, и, вероятно, определяет, какие пациенты полностью выздоравливают от ОПП или прогрессируют до хронического заболевания почек [27]. Согласно данным других авторов не менее важное значение имеет восстановление поврежденных почечных клубочков

с предотвращением развития гломерулосклероза, в процессе которого важную роль играет возможность сохранения жизнеспособности и регенерации подоцитов [28].

Полученные нами результаты показали, что уменьшение выраженности морфологических нарушений, определяющих более быстрое восстановление функциональной активности ишемизированной почки, при терапии СЭСК связано как со стимуляцией регенерации поврежденных клеток, так и с подавлением процесса их апоптоза. При этом фактор стимуляции регенерации играет более важную роль в отношении почечных канальцев, а фактор ингибирования апоптоза поврежденных клеток – в отношении клубочкового аппарата почки.

Для регенерации канальцевого эпителия по данным Н. Fattah и соавт. необходима дедифференцировка клеток во время фазы повреждения канальцев, что способствует последующей клеточной пролиферации и замещению утраченных эпителиальных клеток [27]. Терапия СЭСК, по всей видимости, способствует стимуляции этого процесса с разблокировкой определенных генов и вступлением клеток в пролиферативный процесс, о чем свидетельствует увеличение эпителиальных клеток, экспрессирующих Ki-67.

Известно, что маркер клеточной пролиферации Ki-67 выявляет лишь начальный этап подготовки клеток к делению и не дает точной информации о последствиях активации клеточного генома – приводит ли это к гипертрофии клеток, делению клеток или гибели клеток в результате митоза из-за выраженного повреждения клеточной ДНК (митотической катастрофе) – тем не менее этот маркер используется многими исследователями для характеристики активности пролиферативного процесса, поскольку его экспрессия коррелирует с другими часто используемыми маркерами пролиферации, в частности, бром-деоксиуридином, и нефропротективным действием терапевтических средств, в том числе СК и их производными [29, 30-33].

Имеются данные, что при ишемическом воздействии максимум регенерации канальцевых клеток наступает на 3-8-й дни после ишемического повреждения [34, 35]. В наших исследованиях мы также выявили, что при терапии СЭСК наибольшее количество канальцев с клетками, мечеными Ki-67, определялось через 3 суток в опытах как с умеренно выраженной, так и при тяжелой ОПН. При этом в опытах с умеренно выраженным ОПП через 7 и 14 суток различия между опытной и контрольной сериями постепенно нивелировались за счет снижения числа меченых клеток в опытной серии и увеличения в контроле. При нарастании степени повреждения почки (тяжелая ОПН) повышенное количество меченых Ki-67 клеток в опытной группе по сравнению с контролем сохранялось до 14 суток.

Таким образом, при умеренно выраженном ОПП терапия СЭСК ускоряет процесс регенерации почечных канальцев, уменьшая функциональные последствия повреждения в наиболее критический период (первые 3 суток). Без терапии регенеративные процессы развиваются медленнее, но сохранившиеся резервы позволяют постепенно восста-

новить функционирование канальцевого аппарата почки. При тяжелой ОПН только терапия СЭСК позволяет адекватно стимулировать регенерацию канальцев и тем самым улучшить функцию поврежденной почки, тогда как без стимуляции резервные возможности клеток становятся недостаточными.

Помимо того, что клетки, экспрессирующие Ki-67, можно отнести к клеткам, вступившим в пролиферативный цикл, имеются данные, что эти клетки не экспрессируют α -актин гладкомышечных клеток (α -АГМК), тогда как во многих клетках, не экспрессирующих Ki-67, выявляется экспрессия α -АГМК [36]. Поскольку α -АГМК обычно выявляется в миофибробластах, его экспрессия может служить индикатором развития эпителиально-мезенхимной трансформации клеток, то есть начального этапа нефросклероза. Индукция терапией СЭСК повышения экспрессии Ki-67 может свидетельствовать, что эта терапия обладает антисклеротическим действием, что подтвердилось гистологическим исследованием.

Ряд авторов предполагает, что после повреждения почки различной этиологии способность к регенерации имеется только у особой популяции клеток, называемой «клетки, длительно удерживающие метки», в частности, бром-деоксиуридин, часто используемый как маркер клеточной регенерации, и именно эти клетки после повреждения активно экспрессируют Ki-67, хотя в норме этот маркер в них не выявляют [31, 37]. При этом в условиях культивирования *in vitro* эти клетки могут дифференцироваться не только в клетки канальцевого эпителия, но и в подоциты, что важно для регенерации клубочков [37].

Выявленное в предыдущих исследованиях быстрое восстановление клубочковой фильтрации при терапии СЭСК может быть связано с уменьшением повреждения почечных клубочков и ускорением их регенерации и гипертрофии, что мы подтвердили в данном исследовании. Хотя при определении экспрессии Ki-67 при терапии СЭСК в структурах почечных клубочков выявлялись лишь немногие меченые париетальные подоциты и клетки мезангиума, тем не менее уже на 3 сутки до 20% клубочков не только сохраняли нормальную морфологию, но и гипертрофировались, тогда как в контрольных опытах гипертрофированные клубочки на этом сроке наблюдения отсутствовали. Обратная зависимость выявлена в отношении доли клубочков с явлениями гломерулосклероза. Если при терапии СЭСК в опытах с 60-минутной ишемии через 3 суток их не выявляли, а после 90-минутной ишемии их доля составляла 5%, то в контрольных опытах эти цифры составили 5 и 10% соответственно. На более отдаленных сроках выраженность гломерулосклероза при терапии СЭСК была в 2-3 раза ниже, чем без терапии.

Таким образом, терапия СЭСК предотвращает развитие склероза клубочков при ОПН и способствует ускорению регенерации и развитию гипертрофии малоповрежденных клубочков. То, что мы не выявили значимой экспрессии Ki-67 в почечных клубочках, возможно, связано с

тем, что его экспрессия индуцируется в почечных структурах в разной степени в зависимости от вида нефропатии: в клубочках – в большей степени при гломерулопатиях, а в эпителии канальцев – при тубулопатиях [38]. При ишемическом повреждении в большей степени страдают извитые канальцы, что и определяет большую стимуляцию пролиферации их эпителия [37]. Кроме того, регенерационный потенциал эпителиальных клеток почечных канальцев существенно выше, чем клеток почечных клубочков, в которых основным источником пролиферирующих клеток являются преимущественно подоциты и в меньшей степени париетальные эпителиальные клетки наружного слоя капсулы Боумена [39, 40]. Именно в этих зонах мы выявляли отдельные меченые Ki-67 клетки

Сохранение клубочкового аппарата при ишемическом повреждении может происходить не только через стимуляцию регенерации клубочковых клеток, но и за счет уменьшения их повреждения, в том числе за счет подавления активности апоптоза. В качестве маркера активности апоптоза часто используют Bcl-2, относящийся к семейству белков В-клеточной лимфомы 2, локализованных на внешней митохондриальной мембране. Регулирующий эффект этого соединения, относящегося к ингибиторам апоптоза, осуществляется во взаимодействии с активаторами этого процесса, в частности Вах. Конечный итог определяется балансом этих регуляторов, причем, проапоптотическая активность Вах ограничивается антиапоптотической активностью Bcl-2. Белки Bcl-2 также регулируют важнейшие функции почечных клеток, включая клеточный метаболизм, аутофагию, морфологию митохондрий (деление и слияние органелл), а также митохондриальный биогенез, что позволяет считать белки BCL-2 определяющими жизнеспособность клеток [41].

Многие авторы выявляли связь между сохранением жизнеспособности клеток почки под влиянием различных воздействий, в том числе при ишемическом повреждении, с сохранением или повышением экспрессии Bcl-2 [42-45]. Более того, искусственно вызванное увеличение экспрессии Bcl-2 у трансгенных мышей приводило к повышению резистентности почек животных к ишемическому повреждению, что сопровождалось снижением активности белка каспазы и уменьшению количества апоптотических клеток [46, 47].

В почечных клубочках в норме мРНК Bcl-2 и ее продукт – белок Bcl-2 были обнаружены в подоцитах, но не выявлялись в мезангиальных клетках [48]. То есть, именно подоциты являются «объектом защиты» от апоптоза. При этом показано, что именно апоптоз подоцитов лежит в основе развития гломерулосклероза, а выраженное снижение экспрессии Bcl-2 в подоцитах сопровождалось увеличением степени повреждения почечных клубочков [42]. Именно такая картина была выявлена в нашем исследовании. Если в норме 80% клубочков экспрессировали Bcl-2, то после ишемического воздействия доля таких клубочков в

контрольных опытах уменьшалась в 4-5 раз, что сопровождалось развитием гломерулосклероза в 10-15% почечных клубочков. В опытах с терапией СЭСК утрата экспрессии Bcl-2 в клубочках была в 1,5-2 раза менее выражена, что сопровождалось значительно меньшим количеством выявляемых клубочков в состоянии гломерулосклероза (не более 5%).

Важным моментом является то, что в клетках млекопитающих Bcl-2 имеет двойную субклеточную локализацию – в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме, и цитопротективный эффект этих белков в зависимости от локализации различен. Экспрессия митохондриального Bcl-2 проявляла значительное ингибирующее действие на апоптоз клеток, индуцируемый цисплатином или истощением АТФ, тогда как эндоплазматический Bcl-2 был гораздо менее эффективен. Во время истощения АТФ цитохром С высвобождался из митохондрий в цитозоль, активируя апоптоз через каспазный путь. Это высвобождение подавляло митохондриальным Bcl-2, но не подавлялось эндоплазматическим Bcl-2. Митохондриальный Bcl-2, но не эндоплазматический Bcl-2, блокировал активацию Вах во время истощения АТФ, критического события в отношении проницаемости внешней мембраны митохондрий и высвобождения цитохрома С [49].

Ингибирование апоптоза, что проявляется сохранением более высокой экспрессии Bcl-2, может быть следствием активации аутофагии, стимулированной СЭСК, которая тормозит этот процесс на эффекторном уровне, способствуя удалению продуктов острой фазы повреждения клеточных органелл [50].

Эти данные могут свидетельствовать, что на субклеточном уровне цитопротективный эффект Bcl-2 реализуется путем защиты митохондрий от повреждения, сохранения барьерных свойств их наружной мембраны, что предотвращает выход в цитоплазму цитохрома С и последующую активацию каспазного пути развития апоптоза. Терапия СЭСК способствует сохранению этого адаптивного пути защиты от клеточного повреждения.

ВЫВОДЫ

Терапевтический эффект СЭСК (препарат Целлекс) опосредован активацией регенерации и подавлением апоптоза поврежденных клеток почки при ишемическом/реперфузионном повреждении, как умеренной, так и значительной выраженности, что способствует более быстрому восстановлению функционального состояния почки после перенесенного ОПП. ■

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Basile DP, Anderson MD, Sutton TA. Pathophysiology of acute kidney injury. *Compr Physiol* 2012;2(2):1303-53. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110041>.
- Zuk A, Bonventre JV. Acute Kidney Injury. *Annu Rev Med* 2016(67):293-307. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-050214-013407>.
- Missoum A. Recent Updates on mesenchymal stem cell based therapy for acute renal failure. *Curr Urol* 2020;13(4):189-199. <https://doi.org/10.1159/000499272>.
- Zhao L, Hu C, Zhang P, Jiang H, Chen J. Mesenchymal stem cell therapy targeting mitochondrial dysfunction in acute kidney injury. *J Transl Med* 2019;17(1):142. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1893-4>.
- Yu SM, Bonventre JV. Acute kidney injury and maladaptive tubular repair leading to renal fibrosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2020;29(3):310-318. <https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000605>.
- Fiorentino M, Grandaliano G, Gesualdo L, Castellano G. Acute kidney injury to chronic kidney disease transition. *Contrib Nephrol* 2018(193):45-54. <https://doi.org/10.1159/000484962>.
- Palant CE, Patel SS, Chawla LS. Acute kidney injury recovery. *Contrib Nephrol* 2018(193):35-44. <https://doi.org/10.1159/000484961>.
- Kumar S. Cellular and molecular pathways of renal repair after acute kidney injury. *Kidney Int* 2018;93(1):27-40. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.07.030>.
- Minocha E, Sinha RA, Jain M, Chaturvedi CP, Nityanand S. Amniotic fluid stem cells ameliorate cisplatin-induced acute renal failure through induction of autophagy and inhibition of apoptosis. *Stem Cell Res Ther* 2019;10(1):370. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1476-6>.
- Hafazeh L, Changizi-Ashtiyani S(1), Ghasemi F, Najafi H, Babaei S, Haghverdi F. Stem cell therapy ameliorates ischemia-reperfusion induced kidney injury after 24 hours reperfusion. *Iran J Kidney Dis* 2019;13(6):380-388.
- Yokoo T. Stem cell sheet therapy: another option for acute kidney injury? *Kidney Int* 2021;99(1):22-24. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.08.034>.
- Bogatcheva NV, Coleman ME. Conditioned medium of mesenchymal stromal cells: a new class of therapeutics. *Biochemistry (Mosc)* 2019;84(11):1375-1389. <https://doi.org/10.1134/S0006297919110129>.
- Pan B, Fan G. Stem cell-based treatment of kidney diseases. *Exp Biol Med (Maywood)* 2020;245(10):902-910. <https://doi.org/10.1177/1535370220915901>.
- Wang SY, Hong Q, Zhang CY, Yang Y, Cai GY, Chen XM. miRNAs in stem cell-derived extracellular vesicles for acute kidney injury treatment: comprehensive review of preclinical studies. *Stem Cell Res Ther* 2019;10(1):281. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1371-1>.
- Selim RE, Ahmed HH, Abd-Allah SH, Sabry GM, Hassan RE, Khalil WKB, Abouhashem NS. Mesenchymal stem cells: a promising therapeutic tool for acute kidney injury. *Appl Biochem Biotechnol* 2019 Sep;189(1):284-304. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-02995-2>.
- Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider, Perez-Fernandez R. Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *Int J Mol Sci* 2017(18):1852. <https://doi.org/10.3390/ijms18091852>.
- Li JS, Li B. Renal injury repair: how about the role of stem cells. *Adv Exp Med Biol* 2019(1165):661-670. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8871-2_32.
- Hafazeh L, Changizi-Ashtiyani S, Ghasemi F, Najafi H, Babaei S, Haghverdi F. Stem cell therapy ameliorates ischemia-reperfusion induced kidney injury after 24 hours reperfusion. *Iran J Kidney Dis* 2019 Nov;13(6):380-388.
- Beer L, Mildner M, Ankersmit HJ. Cell secretome based drug substances in regenerative medicine: when regulatory affairs meet basic science. *Ann Transl Med* 2017(5):170.
- GolleL, Gerth HU, Beul K, Heitplatz B, Barth P, Fobker M, et al. Bone marrow-derived cells and their conditioned medium induce microvascular repair in uremic rats by stimulation of endogenous repair mechanisms. *Sci Rep* 2017(7):9444.
- Lee KH, Tseng WC, Yang CY, Targ DC. The Anti-inflammatory, anti-oxidative, and anti-apoptotic benefits of stem cells in acute ischemic kidney injury. *Int J Mol Sci* 2019;20(14). pii: E3529. <https://doi.org/10.3390/ijms20143529>.
- Rota C, Morigi M, Imberti B. Stem cell therapies in kidney diseases: progress and challenges. *Int J Mol Sci* 2019(20):2790; <https://doi.org/10.3390/ijms20112790>.
- Yun CW, Lee SH. Potential and therapeutic efficacy of cell-based therapy using mesenchymal stem cells for acute/chronic kidney disease. *Int J Mol Sci* 2019;20(7):1619. <https://doi.org/10.3390/ijms20071619>.
- Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Голованов С.А., Дрожжева В.В., Ефремов Г.Д., Самойлова С.И. Стимуляция структурно-функционального восстановления почки у крыс с постишемической острой почечной недостаточностью разной степени выраженности терапией эмбриональным белково-пептидным комплексом. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2020;169(5):551-558. [Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Golovanov S.A., Drozhzheva V.V., Efremov G.D., Samjlova S.I. Stimulation of the structural and functional recovery of the kidney in rats with post-ischemic acute renal insufficiency of varying severity by therapy with an embryonic protein-peptide complex. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2020;169(5):551-558. (in Russian)].
- Ferenbach DA, Bonventre JV. Acute kidney injury and chronic kidney disease: From the laboratory to the clinic. *Nephrol Ther* 2016;12(Suppl 1):S41-8. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2016.02.005>.
- Ogbadu J, Singh G, Aggarwal D. Factors affecting the transition of acute kidney injury to chronic kidney disease: Potential mechanisms and future perspectives. *Eur J Pharmacol* 2019(865):172711. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172711>.
- Fattah H, Vallon V. Tubular recovery after acute kidney injury. *Nephron* 2018;140(2):140-143. <https://doi.org/10.1159/000490007>.
- Кирпатовский В.И., Соколов М.А., Рабинович Э.Э., Сивков А.В. Клеточные и гуморальные механизмы регенерации почки. *Экспериментальная и клиническая урология* 2017(2):42-51. [Kirpatovskiy V.I., Sokolov M.A., Rabinovich E.Z., Sivkov A.V. Cellular and humoral mechanisms of

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- kidney regeneration. *Eksperimentalnaya i Klinicheskaya urolo-giya = Experimental and Clinical Urology* 2017;(2):42-51. (in Russian)].
29. Thomasova D, Anders HJ. Cell cycle control in the kidney. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30(10):1622-30. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfu395>.
30. Liu X, Liu H, Sun L, Chen Z, Nie H, Sun A, et al. The role of long-term label-retaining cells in the regeneration of adult mouse kidney after ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res Ther* 2016;7(1):68. <https://doi.org/10.1186/s13287-016-0324-1>.
31. Sakakima M, Fujigaki Y, Yamamoto T, Hishida A. A distinct population of tubular cells in the distal S3 segment contributes to S3 segment regeneration in rats following acute renal failure induced by uranyl acetate. *Nephron Exp Nephrol* 2008;109(2):e57-70. <https://doi.org/10.1159/000142100>.
32. Goodlad RA. Quantification of epithelial cell proliferation, cell dynamics, and cell kinetics in vivo. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 2017;6(4). <https://doi.org/10.1002/wdev.274>.
33. Hussein AM, Barakat N, Awadalla A, Gabr MM, Khater S, Harraz AM, et al. Modulation of renal ischemia/reperfusion in rats by a combination of ischemic preconditioning and adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSCs). *Can J Physiol Pharmacol* 2016;94(9):936-46. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0018>.
34. Regner KR, Nozu K, Lanier SM, Blumer JB, Avner ED, Sweeney WE Jr, Park F. Loss of activator of G-protein signaling 3 impairs renal tubular regeneration following acute kidney injury in rodents. *FASEB J*. 2011;25(6):1844-55. <https://doi.org/10.1096/fj.10-169797>.
35. Sari FT, Arfian N, Sari DCR. Effect of kidney ischemia/reperfusion injury on proliferation, apoptosis, and cellular senescence in acute kidney injury in mice. *Med J Malaysia* 2020;75(Suppl 1):20-23.
36. Terada N, Karim MR, Izawa T, Kuwamura M, Yamate J. Expression of OI-catenin in regenerating renal tubules of cisplatin-induced kidney failure in rats. *Clin Exp Nephrol* 2018;22(6):1240-1250. <https://doi.org/10.1007/s10157-018-1583-1>.
37. Kim K, Lee KM, Han DJ, Yu E, Cho YM. Adult stem cell-like tubular cells reside in the corticomedullary junction of the kidney. *Int J Clin Exp Pathol* 2008;1(3):232-41.
38. Hall PA, Greenwood RA, d'Ardenne AJ, Levinson DA. In situ demonstration of renal tubular regeneration using the monoclonal antibody Ki67. *Nephron* 1988;49(2):122-5. <https://doi.org/10.1159/000185037>.
39. Shankland SJ, Pippin JW, Duffield JS. Progenitor cells and podocyte regeneration. *Semin Nephrol* 2014;34(4):418-428. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2014.06.008>.
40. Wanner N, Hartleben B, Herbach N, Goedel M, Stickle N, Zeiser R, et al. Unraveling the role of podocyte turnover in glomerular aging and injury. *J Am Soc Nephrol* 2014;25(4):707-716. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013050452>.
41. Borkan SC. The role of BCL-2 family members in acute kidney injury. *Semin Nephrol*. 2016 May;36(3):237-50. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2016.04.001>.
42. Qiu LQ, Sinniah R, I-Hong Hsu S. Downregulation of Bcl-2 by podocytes is associated with progressive glomerular injury and clinical indices of poor renal prognosis in human IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(1):79-90. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000104573.54132.2e>.
43. Isaka Y, Suzuki C, Abe T, Okumi M, Ichimaru N, Imamura R, et al. Bcl-2 protects tubular epithelial cells from ischemia/reperfusion injury by dual mechanisms. *Transplant Proc* 2009;41(1):52-4. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.10.026>.
44. Kim JH, Lee SS, Jung MH, Yeo HD, Kim HJ, Yang JI, et al. N-acetylcysteine attenuates glycerol-induced acute kidney injury by regulating MAPKs and Bcl-2 family proteins. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25(5):1435-43. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp659>.
45. Hashemi M. The Study of pentoxifylline drug effects on renal apoptosis and bcl-2 gene expression changes following ischemic reperfusion injury in rat. *Iran J Pharm Res* 2014 Winter;13(1):181-9.
46. Suzuki C, Isaka Y, Shimizu S, Tsujimoto Y, Takabatake Y, Ito T, et al. Bcl-2 protects tubular epithelial cells from ischemia reperfusion injury by inhibiting apoptosis. *Cell Transplant* 2008;17(1-2):223-9. <https://doi.org/10.3727/000000008783907053>.
47. Chien CT, Chang TC, Tsai CY, Shyue SK, Lai MK. Adenovirus-mediated bcl-2 gene transfer inhibits renal ischemia/reperfusion induced tubular oxidative stress and apoptosis. *Am J Transplant* 2005;5(6):1194-203. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2005.00826.x>.
48. Haishima A, Murakami M, Ikeda T, Inoue K, Kamiie J, Shirota K. Detection of Bcl-2 mRNA and its product in the glomerular podocytes of the normal rat kidney. *Exp Toxicol Pathol*. 2012;64(6):633-7. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.12.006>.
49. Bhatt K, Feng L, Pabla N, Liu K, Smith S, Dong Z. Effects of targeted Bcl-2 expression in mitochondria or endoplasmic reticulum on renal tubular cell apoptosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008;294(3):F499-507. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00415.2007>.
50. Cui J, Bai X, Chen X. Autophagy and acute kidney injury. *Adv Exp Med Biol* 2020;1207:469-480. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4272-5_34.

Сведения об авторах:

Кирпатовский В.И. – д.м.н., профессор, гл. научный сотрудник НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ» Минздрава России; Москва, Россия; vladkirp@yandex.ru; РИНЦ Author ID 604441

Сивков А.В. – к.м.н., заместитель директора по научной работе НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ» Минздрава России; uroinfo@yandex.ru; РИНЦ Author ID 622663

Ефремов Г.Д. – к.м.н., заведующий научно-лабораторным отделом НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ» Минздрава России; Москва, Россия; efremov.gen@yandex.ru; РИНЦ Author ID 637962

Самойлова С.И. – врач отдела патологической анатомии НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ» Минздрава России; Москва, Россия; sv_samoilova75@mail.ru

Фролова Е.В. – старший научный сотрудник отдела «Биология» ВИНТИ РАН; Москва, Россия

Аполыхин О.И. – д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН, директор НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ» Минздрава России; Москва, Россия; sekr.urology@gmail.com; РИНЦ Author ID 683661

Вклад авторов:

Кирпатовский В.И. – проведение экспериментов на животных, написание текста статьи, 40%
Сивков А.В. – концепция исследования, окончательное редактирование, 20%
Ефремов Г.В. – анализ результатов гистологических и гистохимических исследований, 15%
Самойлова С.И. – проведение гистохимического исследования, 10%
Фролова Е.В. – подбор и анализ данных литературы, предварительное редактирование, 10%
Аполыхин О.И. – общее руководство работой, 5%

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Работа выполнена без финансовой поддержки.

Статья поступила: 01.02.22

Результаты рецензирования: 28.02.22

Исправления получены: 03.03.22

Принята к публикации: 05.03.22

Information about authors:

Kirpatovskiy V.I. – Dr. Sc., professor, chief scientific researcher of N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Health of Russian Federation; Moscow, Russia; vladkirp@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4356-9200>

Sivkov A.V. – PhD, deputy director on scientific work of N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Health of Russian Federation; Moscow, Russia; uroinfo@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8852-6485>

Efremov G.D. – PhD, head of scientific laboratory department of N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Health of Russian Federation; Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8822-8119>

Samoilova S.I. – physician of scientific laboratory department of N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Centre of Radiology of the Ministry of Health of Russian Federation; Moscow, Russia; sv_samoilova75@mail.ru

Frolova E.V. – Chief researcher, Department of «Biology» of All-Russian Institute of Scientific and Technical Information of RAS; Moscow, Russia

Apolikhin O.I. – Dr. Sc, professor, cor.-member of RAS, director of N. Lopatkin Research Institute of urology and Interventional Radiology – branch of the National Medical Research Centre of Radiology of Ministry of health of Russian Federation; Moscow, Russia; sekr.urology@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0206-043X>

Authors' contributions:

Kirpatovskiy V.I. – animal experiments, writing the text of article, 40%
Sivkov A.V. – concept of investigation, final edition, 20%
Efremov G.D. – analysis of morphological and histochemical data, 15%
Samoilova S.I. – histochemical investigation, 10%
Frolova E.V. – selection and analysis of literature data, edition, 10%
Apolikhin O.I. – general management of work, 5%

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The article was done without financial support.

Received: 01.02.22

Peer review: 28.02.22

Corrections received: 03.03.22

Accepted for publication: 05.03.22