

Профилактика развития острой постишемической почечной недостаточности с использованием белково-пептидного комплекса эмбриональной ткани

В.И. Кирпатовский¹, А.В. Сивков¹, С.А. Голованов¹, В.В. Дрожжева¹, С.И. Самойлова¹, Э.З. Рабинович², М.А. Соколов², Г.Д. Ефремов¹

¹ НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 105425, Россия, 3-я Парковая ул., д. 51, стр. 4;

² КАО «Фарм-Синтез»;

Ответственный за контакт с редакцией: Кирпатовский Владимир Игоревич, vladkirp@yandex.ru

Введение. Регенеративная медицина является активно развивающимся направлением экспериментальных исследований. Изучается протективный эффект низкодифференцированных (стволовых, прогениторных) клеток, а также продуктов их метаболизма и секреции при моделировании различных острых и хронических заболеваний органов. В данном исследовании изучали возможность ускорения регенерации и восстановления функции почки, поврежденной ишемией, при использовании белково-пептидного комплекса (БПК), выделенного из тканей эмбрионов свиньи.

Материалы и методы. В опытах на 46 крысах-самцах моделировали острую почечную недостаточность путем правосторонней нефрэктомии и ишемии оставшейся левой почки в течение 60 минут с последующим восстановлением кровоснабжения. В 1-й серии опытов (20 крыс) терапии не проводили, а во 2-й серии (20 крыс) ежедневно 5 раз в неделю (10 инъекций) подкожно вводили БПК, выделенный из ткани головного мозга эмбрионов свиньи в дозе 0,1 мл/кг массы тела (активный компонент препарата Целлекс, производства АО «Фарм-Синтез» Россия). Шесть интактных крыс служили контролем. Оценивали динамику функциональных показателей и выраженность морфологических изменений в почках через 3, 7 и 14 суток после ишемии.

Результаты. Показано, что у крыс 2-й группы происходило более полноценное восстановление показателей функционального состояния почек (клубочковая фильтрация, канальцевая реабсорбция натрия и кальция, суточная экскреция креатинина) с их нормализацией к 14-м суткам, тогда как в 1-й серии большинство показателей оставалось достоверно сниженными. Во 2-й группе отмечали более активную регенерацию почечных структур. Масса оставшейся почки через 14 суток увеличивалась более значительно, чем у крыс 1-й группы, достигая 81,8% от суммарной массы обеих почек в норме, тогда как в 1-й серии она составила 57,7% от массы обеих почек. При гистологическом исследовании почек во 2-й группе выявили выраженную гипертрофию клубочков уже на ранних сроках исследования, а также менее выраженное повреждение эпителия почечных канальцев на всех сроках исследования по сравнению с 1-й группой. Также во 2-й серии отмечалась менее выраженная воспалительная реакция в ткани почки на ранних сроках и меньшая степень интерстициального фиброза к 14-м суткам наблюдения.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о выраженном защитном эффекте БПК эмбриональных тканей в условиях развития острой постишемической почечной недостаточности.

Ключевые слова: острая почечная недостаточность, регенеративная медицина, эмбриональные ткани.

Для цитирования: Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Голованов С.А., Дрожжева В.В., Самойлова С.И., Рабинович Э.З., Соколов М.А., Ефремов Г.Д. Профилактика развития острой постишемической почечной недостаточности с использованием белково-пептидного комплекса эмбриональной ткани. Экспериментальная и клиническая урология 2019;(3):32-39

DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-3-32-39

Prevention of the development of acute post-ischemic renal insufficiency using a protein-peptide complex of embryonal tissue

V.I. Kirpatovskiy¹, A.V. Sivkov¹, S.A. Golovanov¹, V.V. Drozhzheva¹, S.I. Samoilova¹, E.Z. Rabinovich^{1,2}, M.A. Sokolov², G.D. Efremov¹

¹ N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation. 105425, Russia, 3-rd Parkovaia st., 51, build 4;

² Pharm-Synthesis company

Contacts: Kirpatovskiy Vladimir Igorevich, vladkirp@yandex.ru

Introduction. Regenerative medicine is an actively developing area of experimental research. The protective effect of low-differentiated (stem, progenitor) cells, as well as the products of their metabolism and secretion, is studied in modeling various acute and chronic diseases of organs. In this study, we studied the possibility of accelerating the regeneration and restoration of kidney function damaged by ischemia using a protein-peptide complex (PPC) isolated from tissues of pig embryos.

Material and methods. In experiments on 46 male rats, acute renal failure was modeled by right-sided nephrectomy and ischemia of the remaining left kidney for 60 minutes, followed by restoration of blood supply. In the 1st series of experiments (20 rats), no therapy was performed. In the 2nd series (20 rats) 5 times a week (10 injections) were daily administered subcutaneously with PPC, isolated from the tissue of the brain of pig embryos in a dose of 0.1 ml / kg body weight (active component of the drug Cellex, manufactured by Pharm-Synthesis, Russia JSC). Six intact rats served as a control. The dynamics of functional indicators and the severity of morphological changes in the kidneys were evaluated 3, 7, and 14 days after ischemia.

Results. It was shown that in rats of the 2nd group there was a more complete restoration of the indicators of the functional state of the kidneys (glomerular filtration rate, tubular reabsorption of sodium and calcium, daily excretion of creatinine) with their normalization by the 14th day, while in the 1st series most of the indicators remained significantly reduced. In the 2nd group, more active regeneration of renal structures was noted. After 14 days, the mass of the remaining kidney increased more significantly than in rats of the 1st group, reaching 81.8% of the total mass of both kidneys, while in the 1st series it amounted to 57.7% of the mass of both kidneys. A histological examination of the kidneys in the 2nd group revealed pronounced glomerular hypertrophy already in the early stages of the study, as well as less pronounced damage to the renal tubule epithelium at all stages of the study compared with the 1st group. Also in the 2nd series, a less pronounced inflammatory reaction was observed in the kidney tissue in the early stages and a lower degree of interstitial fibrosis by the 14th day of observation.

Output. The obtained results indicate a pronounced protective effect of PPC of embryonic tissues in the acute post-ischemic renal failure.

Key words: acute renal failure, regenerative medicine, embryonic tissue.

For citation: Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Golovanov S.A., Drozhzheva V.V., Samoilova S.I., Rabinovich E.Z., Sokolov M.A., Efremov G.D. Prevention of the development of acute post-ischemic renal insufficiency using a protein-peptide complex of embryonal tissue. Experimental and clinical urology 2019; (3):32-39

Острая почечная недостаточность (ОПН) является тяжелым жизненно-опасным осложнением. В урологической практике ОПН может развиваться после операции на единственной почке по поводу мочекаменной болезни, злокачественной опухоли, вазоренальной гипертензии, а также при инфекционно-токсическом шоке. Одним из новых направлений, способных помочь в профилактике и лечении этого состояния, является применение современных клеточных технологий с использованием низкодифференцированных (стволовых, прогениторных) клеток, способных стимулировать регенерацию поврежденных клеточных структур и тем самым способствовать ускорению восстановления функциональной полноценности органа.

Показано, что внутривенное или интрапаренхиматозное введение культивированных мезенхимных стволовых клеток костного мозга, жировой ткани или плодной почки уменьшает смертность животных при ОПН, вызванной ишемическим повреждением и ускоряет восстановление ее функциональной активности [1-3]. При этом терапевтический эффект связывают с действием комплекса биологически активных веществ (факторы роста, цитокины, хемокины, ангиогенные факторы), секретируемых этими клетками, которые объединяют термином «секретом» [4,5], тогда как непосредственному замещению введенными клетками поврежденных собственных клеток органа придается небольшое значение, поскольку их включение в тканевые структуры не превышает 1% [6,7].

В связи с этим ведутся исследования по изучению возможности стимуляции регенерации поврежденных органов непосредственно гуморальными факторами, выделяемыми стволовыми клетками. Включение этих факторов в коллагеновые матрицы улучшают функциональные результаты заместительной пластики мочевых путей [8-12]. Комплекс «секретома» культивируемых мезенхимных стволовых клеток жировой ткани и коллагенового геля при инъекции в крипторхированное яичко способствует регенерации сперматогенного эпителия и восстановлению нарушенного сперматогенеза [13,14].

Другим возможным подходом к стимуляции регенерации поврежденных органов с использованием биологически активных веществ, продуцируемых стволовыми клетками является выделение комплекса биологически активных веществ из тканей эмбрионов животных, которые богаты стволовыми клетками. Имеются данные, что применение белково-пептидного комплекса (БПК), выделенного из головного мозга эмбрионов свиней (препарат Целлекс) способствует регенерации поврежденных нервных структур и ускорению восстановления функции ЦНС после инсульта или хронических заболеваний головного мозга [15-17], и это в значительной степени связано со способностью этого препарата стимулировать регенерацию [18].

Учитывая эти данные, а также органо-неспецифический характер действия секретомы стволовых клеток, мы посчитали целесообразным изучить терапевтический эф-

фект БПК мозговой ткани эмбрионов свиньи при экспериментально вызванной постишемической ОПН с оценкой влияния этой терапии на динамику восстановления функциональных показателей и выраженность морфологических признаков повреждения органа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 46 белых беспородных крыс-самцах массой 300-360 г. Крыс вводили в наркоз внутривенным введением смеси препаратов Золетил и Ксилавет в соотношении 1:1 при расчетной дозе Золетила 15 мг/кг. После выполнения срединной лапаротомии выделяли из жировой капсулы левую почку и ее сосудистую ножку. С помощью микрохирургической зажима-клипсы пережимали почечную артерию и вену на 60 минут. Ишемизированную почку возвращали в брюшную полость. Производили правостороннюю нефрэктомия. На время ишемии брюшную полость закрывали, чтобы избежать охлаждения животного. После окончания срока ишемии восстанавливали кровоснабжение левой почки, удаляя микрососудистый зажим. После констатации возобновления кровоснабжения брюшную полость орошали водным раствором 0,06% хлоргексидина для профилактики инфекционных осложнений и ушивали ее двухрядным обвивным швом атравматической нитью Викрол 4/0 (на мышечную стенку) и 2/0 (на кожу).

В 1-й (контрольной) серии (20 крыс) терапевтических мероприятий не проводили, а во 2-й (опытной) серии (20 крыс) животным вводили БПК, выделенный из головного мозга эмбрионов свиньи, содержащий хроматографически выделенный комплекс сигнальных пептидов и белков с молекулярным весом от 10 до 250 кДа, относящихся к факторам роста и дифференцировки клеток (активный компонент препарата «Целлекс» производства АО «Фарм-Синтез»). БПК вводили ежедневно подкожно в дозе 0,1 мл/кг массы тела (0,1 мг/кг активного вещества) 5 дней в неделю, всего 10 инъекций. Шесть интактных крыс служили контролем для получения нормальных значений изучаемых биохимических и гистологических показателей.

Животных 1-й и 2-й групп обследовали на 3-й, 7-й и 14-й дни после моделирования ОПН. Для этого их помещали в обменные клетки на сутки для сбора суточной мочи. После этого брали пробы крови для биохимического исследования и на 14 сутки удаляли ишемизированную почку для гистологического исследования. При этом определяли степень ее гипертрофии взвешиванием.

Биохимическое исследование крови и мочи проводили на биохимическом анализаторе «ADVIA-2000» с определением следующих показателей: концентрация креатинина, мочевины, натрия, калия, кальция в крови и моче, белка в моче. На основании биохимических данных рассчитывали показатели функционального состояния ишемизированной почки – клубочковую фильтрацию (по клиренсу эндогенного креатинина), канальцевую

реабсорбцию натрия и кальция, фильтрационный заряд, количество реабсорбированного натрия и кальция, суточную экскрецию креатинина.

Морфологическое исследование удаленной почки проводили по стандартной методике с окрашиванием парафиновых срезов гематоксилином и эозином.

Статистический анализ 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 ИССЛЕДОВАНИЯ

Все животные обеих групп выжили в течение всего срока наблюдения.

Определение степени гипертрофии единственной ишемизированной почки показало, что ее масса к 14 суткам постинфарктного периода возросла в контрольной серии с $1,56 \pm 0,07$ г (средняя масса одной интактной почки) до $1,80 \pm 0,05$ г, тогда как в опытной серии (терапия БПК) масса почки увеличилась до $2,55 \pm 0,06$ г. Различия между группами оказались статистически высокодостоверными при $p < 0,001$. Таким образом, терапия БПК эмбриональных тканей способствует стимуляции компенсаторной гипер-

трофии единственной ишемизированной почки, причем ее масса к 14-м суткам достигает 81,8% от массы обеих почек в норме, тогда как в контроле гипертрофия почки составляет лишь 57,7% от массы обеих почек.

Анализ величины диуреза и основных биохимических показателей крови не выявил достоверных различий между группами по таким параметрам, как концентрация мочевины и креатинина, калия, натрия и кальция. В обеих группах через 3 суток после ишемического воздействия отмечалась умеренная полиурия (различия с нормальными значениями $p < 0,05$), которая к 7 суткам имела тенденцию к нормализации, однако через 14 дней диурез вновь возрастал, превышая примерно в 2 раза нормальные значения ($p < 0,01$) (табл. 1). Концентрация мочевины и креатинина в крови во все сроки наблюдения была достоверно выше нормальных значений, подтверждая развитие ОПН. В обеих группах выраженность подъема этих показателей была примерно одинаковой и с увеличением срока, прошедшего после ишемического воздействия, выявилась тенденция к их нормализации, однако, даже через 2 недели они оставались достоверно выше нормы. Динамика изменений уровня мочевины и креатинина в крови в 1-й и 2-й группах достоверно не различалась.

В отношении концентрации натрия в крови в обеих группах выявилась тенденция к гипернатриемии ($p < 0,05$), но к концу периода наблюдения этот показатель полностью нормализовался в обеих группах. Концентрация кальция

Таблица 1. Динамика диуреза и биохимических показателей крови в исследуемых группах

Table 1. Dynamics of diuresis and biochemical blood parameters in studied groups

Показатель Indicator	Норма Norm	Группы Groups	3 суток 3 days	7 суток 7 days	14 суток 14 days
Диурез (мл/сут.) Diuresis (ml / day)	11,3±0,6	1-я	16,5±1,9*	13,8±0,4*	19,9±2,1**
		2-я	17,5±1,1*	14,9±0,5*	25,3±2,3**
Мочевина (ммоль/л) Urea (mmol / L)	6,1±0,3	1-я	11,5±0,7***	10,0±0,4**	8,6±0,4*
		2-я	11,6±0,6***	10,7±0,5**	9,3±0,5*
Креатинин (мкмоль/л) Creatinine (μmol / l)	60±2	1-я	92±1***	77±1*	68±1*
		2-я	104±6***	81±2*	70±1*
Натрий (мэкв/л) Sodium (meq / L)	145±1	1-я	151±1*	153±1*	145±1
		2-я	152±1*	152±1*	147±1
Кальций (мэкв/л) Calcium (meq / L)	2,61±0,03	1-я	2,51±0,02	2,51±0,02	2,49±0,05
		2-я	2,55±0,01	2,56±0,02	2,52±0,04

Примечание: достоверность различий по сравнению с нормальными значениями: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Note: significance of differences compared to normal values: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Таблица 2. Показатели функционального состояния почек в сравниваемых группах

Table 2. Indicators of the functional state of the kidneys in the compared groups

Показатель Indicator	Норма Norm	Группы Groups	3 суток 3 days	7 суток 7 days	14 суток 14 days
Клубочковая фильтрация (мл/мин) Glomerular filtration (ml / min)	1,44±0,07	1-я	0,71±0,04***	0,85±0,05**	1,26±0,03*
		2-я	0,90±0,09*	1,24±0,08#	1,70±0,13#
Реабсорбция натрия (%) Sodium reabsorption (%)	99,32±0,04	1-я	99,18±0,05*	98,86±0,07**	99,06±0,04*
		2-я	99,45±0,04#	99,06±0,03*,#	99,08±0,04*
Реабсорбция кальция (%) Calcium reabsorption (%)	99,68±0,04	1-я	98,37±0,10***	98,44±0,09***	98,26±0,08***
		2-я	98,94±0,09***, #	98,53±0,03***	97,97±0,06***
Филтрац. заряд Na (мкмоль) Filtrats. charge of Na (μmol)	201±16	1-я	107±5***	124±9**	184±6
		2-я	166±9*, #	188±18#	242±17#
Филтрац. заряд Ca (мкмоль) Filtrats. Ca charge (μmol)	3,74±0,03	1-я	1,76±0,07***	2,13±0,10***	3,15±0,09**
		2-я	2,30±0,08***, ##	3,54±0,14##	4,35±0,23#
Суточная экскреция креатинина (мкмоль/сут.) Daily creatinine excretion (μmol / day)	130,4±9,3	1-я	94,5±5,7*	103,6±4,2	123,3±3,1
		2-я	132,2±5,1##	146,5±10,1#	171,9±12,9#

Примечание: Достоверность различий по сравнению с нормой: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$. Достоверность различий между 1-й и 2-й группами: # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$

Note: Significance of differences compared with the norm: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Significance of differences between the 1st and 2nd groups: # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$

в крови в обеих группах достоверно не менялась на всех сроках исследования.

В то же время расчетные показатели функционального состояния почки оказались достоверно лучше в опытной серии (табл. 2).

Клубочковая фильтрация в обеих группах на 3-и сутки после ишемии достоверно снижалась, но в серии с терапией БПК в меньшей степени, чем в контрольной группе, хотя различия не достигли статистически значимой достоверности. Через 7 и 14 суток в контрольной серии опытов значения клубочковой фильтрации оставались достоверно ниже нормальных значений с тенденцией к постепенному восстановлению. При этом в опытной группе (терапия БПК) уже к 7-м суткам этот показатель полностью нормализовался и сохранялся на нормальных значениях до конца периода наблюдения. Различия между 1-й и 2-й группами на 7-е и 14-е сутки оказались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Реабсорбция натрия в почечных канальцах после ишемии в обеих группах также ухудшалась, но позднее, чем клубочковая фильтрация. В контрольной серии наибольшее снижение этого показателя отмечено на 7-е сутки с некоторым улучшением к 2-недельному сроку. В опытной серии уже через 3 суток после ишемии значения этого показателя достоверно не отличались от нормы и были достоверно лучше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Через 7 суток нарушение реабсорбции натрия возросло у крыс этой группы, но все же реабсорбция оставалась лучше, чем в контроле ($p < 0,05$), а через 2 недели значения этого показателя в обеих группах не различались.

В отношении канальцевой реабсорбции кальция достоверные различия между группами отмечены через 3 суток после ишемического воздействия, когда значения этого показателя в опытной группе были ближе к норме, чем в контрольных опытах. В более позднем периоде значения канальцевой реабсорбции кальция оставались сниженными в обеих группах.

Степень реабсорбции электролитов в почечных канальцах в условиях ишемического повреждения может зависеть от нагрузки на структуры канальцев, отвечающих за этот процесс, показателем чего является фильтрационный заряд, то есть, количество профильтрованного в почечных клубочках количества того или иного электролита – в нашем исследовании натрия и кальция. Расчет этого показателя показал, что в отношении натрия в контрольной серии через 3 суток после ишемии отмечено двукратное снижение этого показателя с постепенным его восстановлением к 14-м суткам. В опытной серии через 3 суток его снижение было достоверно менее выражено ($p < 0,05$) уже через 7 дней он нормализовался. В отношении фильтрационного заряда кальция отмечалась такая же картина: менее выраженное снижение через 3 суток после ишемии и нормализация через 7 и 14 суток. На всех сроках исследования эти показатели были достоверно лучше у животных, леченых БПК эмбриональной ткани.

Их динамика соответствует динамике восстановления клубочковой фильтрации в ишемизированной почке.

Учитывая потенциальное влияние количества профильтрованного в клубочках натрия и кальция на процентный показатель их реабсорбции в почечных канальцах в условиях ишемического повреждения органа, мы провели расчет абсолютных значений реабсорбированного количества этих катионов путем умножения фильтрационного заряда на процент реабсорбированного катиона. Оказалось, что в контрольной группе количество реабсорбированного натрия в минуту на 3-и и 7-е сутки существенно снизилось (почти в 2 раза по сравнению с нормой) с тенденцией к восстановлению к 14 суткам после ишемии (рис. 1).

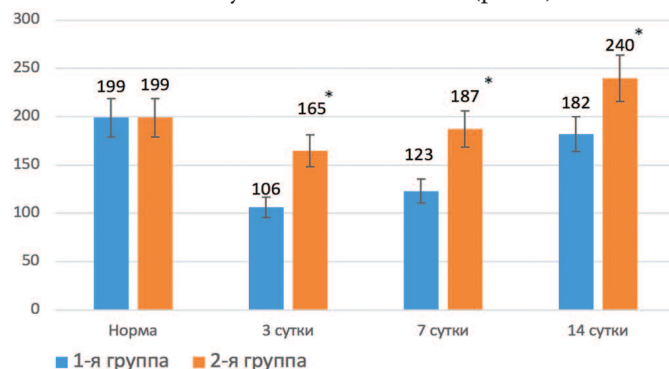


Рис. 1. Абсолютные значения реабсорбированного натрия в почечных канальцах (мкмоль/мин) в сравниваемых группах. *различия между группами достоверны при $p < 0,05$
 Fig. 1. Absolute values of reabsorbed sodium in the renal tubules (µmol/min) in the compared groups. *differences between groups are significant at $p < 0,05$

В опытной группе степень снижения этого показателя оказалась достоверно меньше и статистически не отличалась от нормы уже через 7 дней. Значения абсолютного количества реабсорбированного натрия во 2-й группе на всех сроках наблюдения были достоверно выше, чем в 1-й группе. Таким образом, несмотря на то, что в процентном отношении канальцевая реабсорбция натрия через 14 суток после ишемии была одинаковой, но абсолютное количество реабсорбированного натрия было выше во 2-й группе, что свидетельствует о лучшей сохранности канальцевого эпителия в почках крыс, леченых БПК.

Схожая ситуация имела место и в отношении реабсорбции кальция (рис. 2). Если по результатам

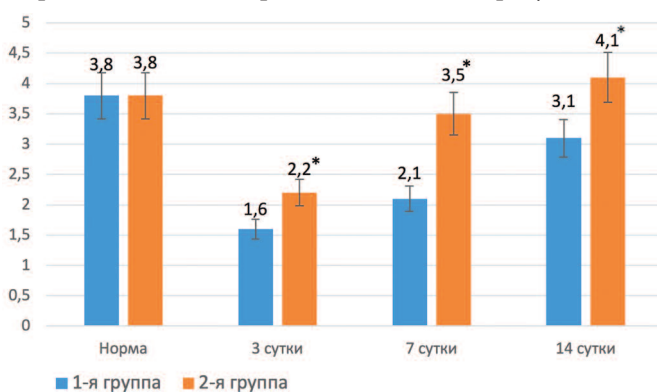


Рис. 2. Абсолютные значения реабсорбированного кальция в почечных канальцах (мэкв/мин) в сравниваемых группах. *различия между группами достоверны при $p < 0,05$
 Fig. 2. Absolute values of reabsorbed calcium in the renal tubules (meq/min) in the compared groups. *differences between groups are significant at $p < 0,05$

определения процентного отношения реабсорбции кальция в почечных канальцах достоверные различия между 1-й и 2-й группами были отмечены лишь в первые 3 суток после ишемии, то при определении абсолютного количества реабсорбированного кальция во 2-й группе значения были достоверно выше по сравнению с 1-й группой на всех сроках наблюдения, что также подтверждает лучшую сохранность канальцевого эпителия в почках крыс, леченых БПК.

Лучшую сохранность почечных структур у крыс 2-й группы подтвердили морфологические исследования. В почках животных этой группы уже через 3 суток и в последующем обнаруживали до 20% гипертрофированных клубочков, тогда как у крыс контрольной группы гипертрофия клубочков выявлялась в более поздние сроки, достигая к 7 суткам в контрольной и опытной группах 50% от общего количества клубочков в препарате (рис. 3А). При этом через 3 суток до 5% клубочков контрольных крыс находилась в коллабированном состоянии, а к 14 суткам их доля возрастала до 15% при развитии признаков начинающегося гломерулосклероза. В опытной группе доля сморщенных клубочков не превышала 1% даже в поздние сроки наблюдения.

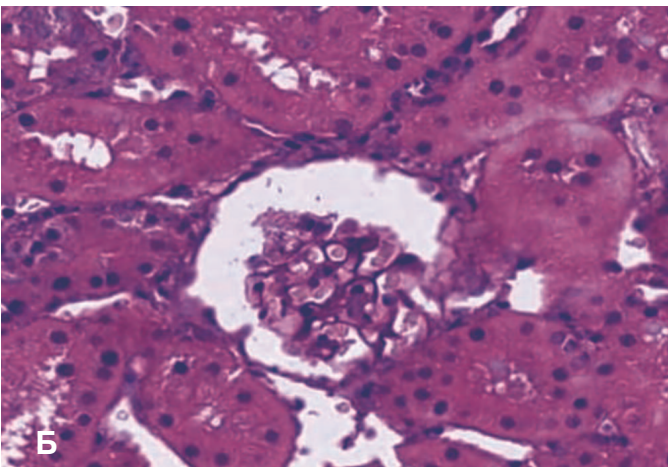
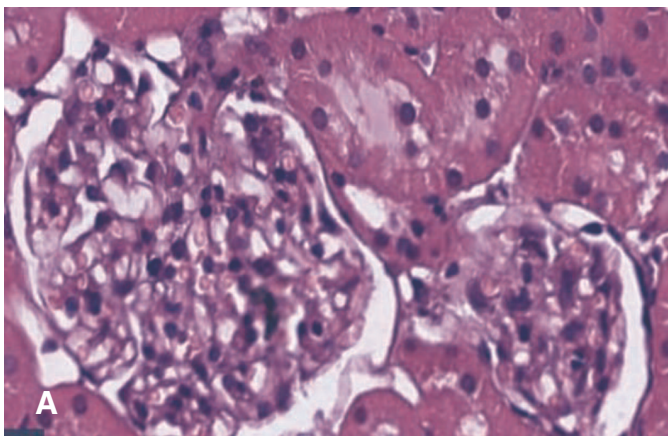


Рис. 3. Гипертрофированный клубочек в почке крысы 2-й группы через 3 суток после ишемии (А) и коллабированный клубочек с развивающимся гломерулосклерозом в почке крысы 1-й группы через 7 суток после ишемии (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200х

Fig. 3. Hypertrophied glomerulus in the kidney of a rat of the 2nd group 3 days after ischemia (A) and a collapsed glomerulus with developing glomerulosclerosis in the kidney of a rat of the 1st group 7 days after ischemia (B). Hematoxylin and eosin stain. 200x magnification

Почечные канальцы также оказались более сохранными у крыс 2-й группы на всех сроках наблюдения. Эпителий проксимальных и дистальных канальцев выглядел малоизмененным. В проксимальных канальцах выявляли зернистую дистрофию эпителиоцитов. В 15-35% дистальных канальцев обнаруживали гиалиново-капельную дистрофию эпителия. Отдельные канальцы были с признаками некробиоза (рис. 4А). В то же время у крыс 1-й группы эпителий более 45% канальцев был в состоянии выраженной гидропической дистрофии. Выявлялись массивные очаги, в которых почечные канальцы были в состоянии некроза и некробиоза. Просвет многих канальцев был заполнен клеточным детритом, в дистальных канальцах выявляли гиалиновые цилиндры (рис. 4Б).

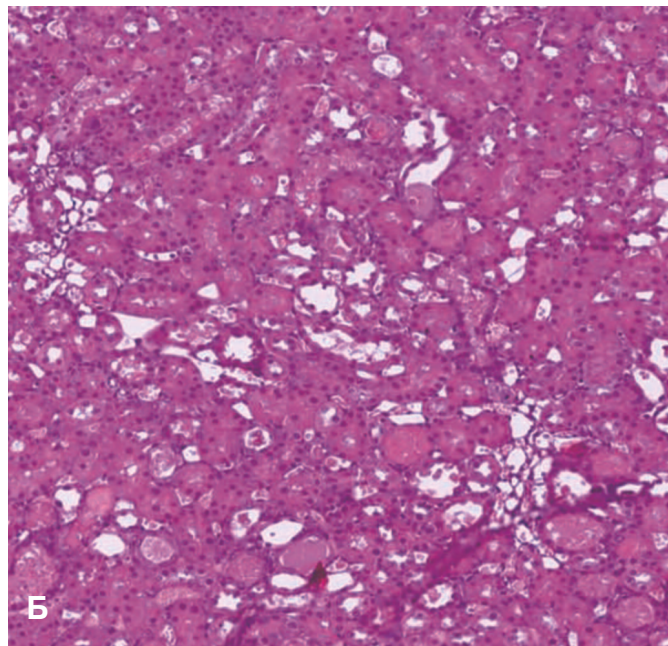
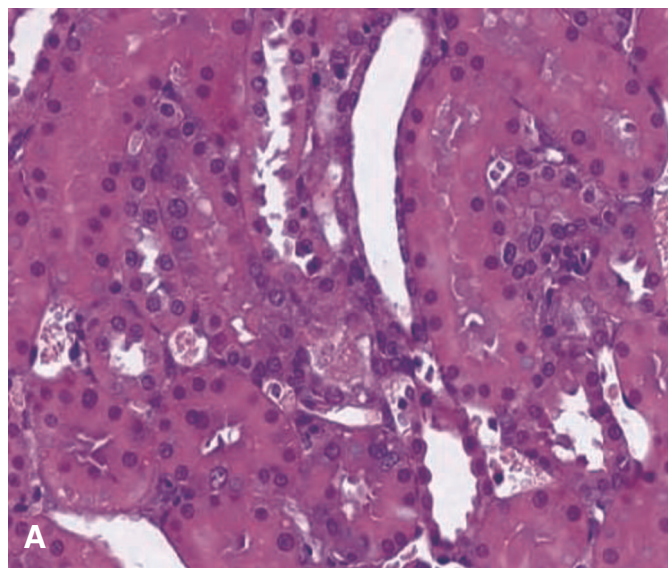


Рис. 4. Нерезко выраженная дистрофия канальцевого эпителия в почках крыс 2-й группы (А) и участок некроза канальцев и гиалиновые цилиндры в их просвете в почках крыс 1-й группы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200х

Fig. 4. Mildly pronounced dystrophy of the tubular epithelium in the kidneys of rats of the 2nd group (A) and the site of tubular necrosis and hyaline cylinders in their lumen in the kidneys of rats of the 1st group. Hematoxylin and eosin stain. 200x magnification

У крыс контрольной группы выявляли выраженные нарушения внутрисочечной микроциркуляции. Отмечалось резко выраженное расширение капилляров клубочков и перитубулярных капилляров с формированием эритроцитарных тромбов в их просвете, (рис. 5). У крыс 2-й группы дилатация капилляров была нерезко выражена.

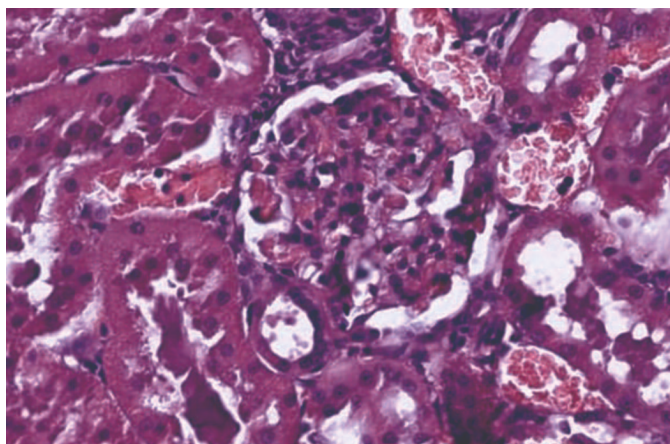


Рис. 5. Резко выраженное расширение клубочковых и перитубулярных капилляров с формированием эритроцитарных тромбов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200х

Fig. 5. A pronounced expansion of the glomerular and peritubular capillaries with the formation of red blood clots. Hematoxylin and eosin stain. 200x magnification

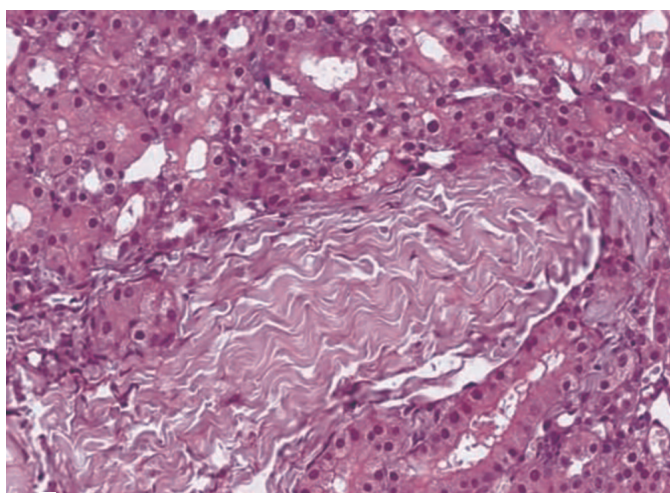
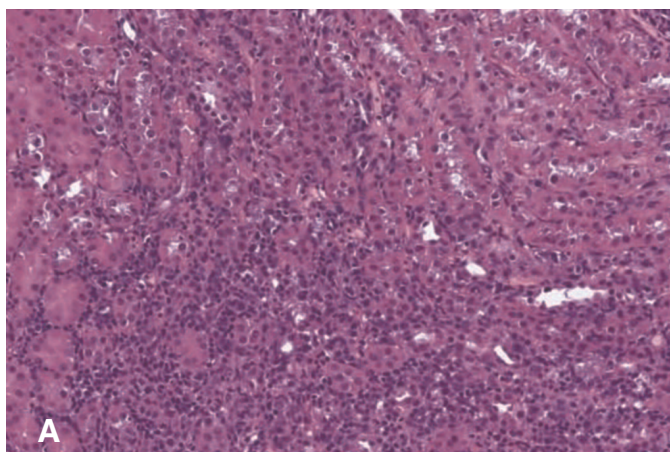


Рис. 6. Воспалительный инфильтрат (А) и очаговый интерстициальный фиброз в почках крыс 1-й группы (Б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200х

Fig. 6. Inflammatory infiltrate (A) and focal interstitial fibrosis in the kidneys of rats of the 1st group (B). Hematoxylin and eosin stain. 200x magnification

В гистологических препаратах 1-й группы выявляли массивные воспалительные инфильтраты (рис. 6 А), тогда как во 2-й группе выраженной воспалительной реакции не обнаруживали. При этом в конце периода наблюдения (14 суток после ишемии) в препаратах выявляли очаговый интерстициальный фиброз, который был существенно более выражен в почках крыс 1-й группы (рис. 6 Б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования убедительно показали, что при экспериментально вызванной ОПН путем ишемии единственной почки длительностью 60 минут, терапия БПК эмбриональной ткани способствует уменьшению выраженности функциональных расстройств и более быстрой нормализации функции органа. Этот эффект в значительной степени связан с ускорением развития компенсаторной гипертрофии ишемизированного органа, что проявляется в большей степени возрастания его массы по сравнению с контрольной серией опытов, приближаясь к 14-м суткам к массе обеих почек у интактных крыс. При этом при гистологическом исследовании в опытной серии выявляли гипертрофию значительной части клубочков (15% в ранние сроки и 50% к 14-м суткам), тогда как в контрольных опытах от 5% (на ранних сроках) до 15% (на поздних сроках) клубочков выглядели коллабировавшими с признаками развития гломерулосклероза. В соответствии с этим у крыс опытной серии определяли более высокие значения клиренса креатинина и лучшую азотовыделительную функцию органа, оцененную по суточной экскреции креатинина.

Степень повреждения почечных канальцев также была существенно менее выражена в опытной серии, что проявлялось в более высоких показателях канальцевой реабсорбции натрия и кальция, так и в морфологических признаках повреждения канальцевого эпителия.

Важным моментом является оценка возможных отдаленных последствий ишемического повреждения почки, проявляющихся в развитии нефросклероза, что потенциально может вести к формированию хронической почечной недостаточности. Наши исследования показали, что без терапии БПК через 14 суток после ишемии в контрольной серии опытов выявляются очаги интерстициального фиброза, замещающие поврежденную паренхиму органа. В опытной группе они выявлялись в единичных случаях и были менее значительными.

Таким образом, терапевтический эффект белково-пептидного комплекса эмбриональной ткани, на наш взгляд, может быть связан со стимуляцией регенерации поврежденных клеточных структур и уменьшением их повреждения. Многие исследования подтверждают, что именно «секретом» и его аутокринные и/или

паракринные эффекты стимулируют регенерацию поврежденных клеток [2,5,6,19,20]. Это в определенной степени может происходить за счет активации резидентных стволовых клеток, выявляемых в почках взрослого организма, и являющихся предшественниками как клеток клубочков (подоцитов, эндотелиоцита), так и канальцевого эпителия [21], которые могут замещать поврежденные клетки этих структур. Кроме того, выделяемый этими клетками комплекс биологически активных веществ также стимулирует пролиферацию дифференцированных клеток за счет механизма дедифференцировки и/или редифференцировки [22].

Другим потенциальным механизмом может быть противовоспалительный эффект гуморальных факторов, продуцируемых стволовыми клетками [3]. В нашем исследовании выявлено существенное уменьшение вы-

раженности воспалительной реакции в ткани ишемизированной почки в постишемическом периоде при терапии эмбриональным БПК по сравнению с контрольными опытами, а в более отдаленном периоде – меньшая степень склерозирования ткани почки, что можно рассматривать как положительный фактор в отношении перехода ОПН в хроническую форму функциональной недостаточности.

Таким образом, проведенное исследование показало выраженный терапевтический эффект терапии БПК эмбриональной ткани у животных с экспериментально вызванной постишемической ОПН и целесообразность дальнейших исследований данного препарата в терапии острых и хронических функциональных расстройств органов моче-половой системы. ■

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Кирпатовский В.И. Возможности клеточной терапии в восстановлении нарушенной функции органов мочеполовой системы. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии* 2016;19 (1):60-67. [Kirpatovskiy V.I. Possibilities of cell therapy in restoring impaired function of the genitourinary organs. *Voprosi Rekonstruktivnoj I plasticheskoy hirurгии*. 2016;19 (1):60-67. (In Russian)].
2. Duffield JS, Park KM, Hsiao LL, Kelley VR, Scadden DT, Ichimura T, et al. Restoration of tubular epithelial cells during repair of the postischemic kidney occurs independently of bone marrow-derived stem cells. *J Clin Invest* 2005;115(7):1743-1755.
3. Chen YT, Sun CK, Lin YC, Chang LT, Chen YL, Tsai TH et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell protects kidneys against ischemia-reperfusion injury through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction. *J Transl Med* 2011;9:51. doi: 10.1186/1479-5876-9-51.
4. Dittmer J, Leyh B. Paracrine effects of stem cells in wound healing and cancer progression (Review). *Int J Oncol* 2014;44(6):1789-98. doi: 10.3892/ijo.2014.2385.
5. Bi B, Schmitt R, Israilova M, Nishio H, Cantley LG. Stromal cells protect against acute tubular injury via an endocrine effect. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(9):2486-96.
6. Humphreys BD, Czerniak S, DiRocco DP, Hasnain W, Cheema R, Bonventre JV. Repair of injured proximal tubule does not involve specialized progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(22):9226-31. doi: 10.1073/pnas.1100629108.
7. Meyer-Schwesinger C. The role of renal progenitors in renal regeneration. *Nephron* 2016;132:101-109. doi: 10.1159/000442180.
8. Камалов А.А., Кирпатовский В.И., Охоботов Д.А., Камалов Д.М., Карпов В.К. Коллагеновые биоматрицы в реконструктивной урологии. *Урология* 2015;(2):103-106. [Kamalov A.A., Kirpatovskiy V.I., Ohobotov D.A., Kamalov D.M., Karpov V.K. Collagen biomatrix in reconstructive urology. *Urologiya* 2015;2:103-106. (In Russian)].
9. Кулакова К.В., Бугров С.Н., Алейник Д.Я., Стручков А.А. Результаты применения разрабатываемых биологически активных материалов на основе коллагена для замещения тканевых дефектов в эксперименте. *Технологии живых систем* 2013;10 (8):59-64. [Kulakova K.V., Bugrov S.N., Alejnik D.Ja, Struchkov A.A. The results of the application of developed biologically active materials based on collagen to replace tissue defects in the experiment. *Tehnologija zhivih system* 2013;10(8):59-64. (In Russian)].
10. Камалов Д.М. Заместительная пластика мочевых путей препаратами их коллагена I типа: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М. 2017. 31 с. [Kamalov D.M. Replacement plastic of urinary tract preparations of their type I collagen]. Cand. Med. Sci [thesis]. M. 2017. 31 p (In Russian)].
11. Adamowicz J, Kowalczyk T, Drewa T. Tissue engineering of urinary bladder – current state of art and future perspectives. *Cent European J Urol* 2013;66(2): 202-6. doi: 10.5173/ceju.2013.02.art23.
12. Jiang X, Xiong Q, Xu G, Lin H, Fang X, Cui D, et al. VEGF-loaded Nanoparticle-Modified BAMAs enhance angiogenesis and inhibit graft shrinkage in tissue-engineered bladder. *Ann Biomed Eng* 2015;43(10):2577-86. doi: 10.1007/s10439-015-1284-9.
13. Камалов А.А., Кирпатовский В.И., Охоботов Д.А., Ефименко А.Ю., Сагарадзе Г.Д., Макаревич П.И., и др. Использование нового материала на основе продуктов секреции мезенхимных стволовых клеток человека и коллагена для восстановления сперматогенеза на модели экспериментального крипторхизма. *Технология живых систем* 2017;14 (1):4-17. [Kamalov A.A., Kirpatovskiy V.I., Ohobotov D.A., Efimenko A.Ju., Sagaradze G.D., Makarevich P.I. i dr. The use of new material based on the secretion of human mesenchymal stem cells and collagen to restore spermatogenesis on the model of experimental cryptorchism]. *Tehnologija zhivih system* 2017; 14 (1):4-17. (In Russian)].
14. Sagaradzea G.D., Basalova N .A., Kirpatovskiy V.I., Ohobotov D.A., Grigorieva O.A., Balabanyan V.Yu., et al. Application of rat cryptorchidism model for the evaluation of mesenchymal stromal cell secretome regenerative potential. *Biomed Pharmacother.* 2019;109:1428-1436. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.174.
15. Коваленко А.В., Сафронова М. Н. Влияние целлекса на восстановление когнитивных и речевых нарушений в остром периоде инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2015;115(1): 40-44. [Kovalenko A.V., Safronova M.N. Influence of the cellex on the restoration of cognitive and speech disorders in the acute period of stroke. *Zhurnal nevrologii i psihiatrii im. S.S.Korsakova* 2015;115(1):40-44. (In Russian)].
16. Хасанова Д.Р., Данилова Т.В., Дёмин Т.В., Кини К.С., Гайфутдинова Л.В. Влияние препарата целлекс на восстановление двигательных и речевых функций в ранней нейрореабилитации пациентов, перенесших ише-

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- мический инсульт. *Медицинский совет* 2018;(9):14-19. [Hasanova D.R., Danilova T.V., Demin T.V., Kini K.S., Gajfutdinova L.V. The effect of Cellex on the restoration of motor and speech functions in the early neurorehabilitation of patients undergoing ischemic stroke. *Meditsinskiy sovet* 2018; 9: 14-19. (In Russian)].
17. Камчатнов П.Р., Измайлов И.А., Соколов М.А. Результаты применения препарата Целлекс у больных с цереброваскулярными заболеваниями. *Нервные болезни* 2018; (1):26-30. [Kamchatnov P.R., Izmajlov I.A., Sokolov M.A. The results of the use of the drug Cellex in patients with cerebrovascular diseases. *Nervnie bolezni* 2018;1:26-30. (In Russian)].
18. Стельмашук Е.В. Механизмы повреждения и защиты нейронов головного мозга при экспериментальном моделировании ишемии. Дисс... докт. биол. наук. М. 2012. 280 с. [Stelmashuk E.V.. Mechanisms of damage and protection of brain neurons in experimental modeling of ischemia. *Dr Biol Sci* [dissertation]. М. 2012. 280 p. (In Russian)].
19. Drago D, Cossetti C, Iraci N, Gaude E, Musco G, Bachi A, et al. The stem cell secretome and its role in brain repair. *Biochimie* 2013; 95(12):2271-85. doi: 10.1016/j.biochi.2013.06.020.
20. van Koppen A, Joles JA, van Balkom BW, Lim SK, de Kleijn D, Giles RH, et al. Human embryonic mesenchymal stem cell-derived conditioned medium rescues kidney function in rats with established chronic kidney disease. *PLoS One* 2012; 7(6):e38746. doi: 10.1371/journal.pone.0038746.
21. Кирпатовский В.И., Соколов М.А., Рабинович Э.З., Сивков А.В. Клеточные и гуморальные механизмы регенерации почки. *Экспериментальная и клиническая урология* 2017;(2):102-111. [Kirpatovskiy V.I., Sokolov M.A., Rabinovich E.Z., Sivkov A.V. [Cellular and humoral mechanisms of kidney regeneration]. *Eksperimentalnaya i klinicheskaya urologiya* 2017;2:102-111. (In Russian)].
22. Sakamoto K, Ueno T, Kobayashi N, Hara S, Takashima Y, Pastan I, et al. The direction and role of phenotypic transition between podocytes and parietal epithelial cells in focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014;306 (1):F98-F104. doi: 10.1152/ajprenal.00228.2013.

Сведения об авторах:

Кирпатовский В.И. – д.м.н., профессор, гл. н. сотрудник научно-лабораторного отдела НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, vladkirp@yandex.ru, ID 604441

Kirpatovskiy V.I. – Dr. Med. Sc., professor, chief scientific researcher of scientific laboratory department of N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation. vladkirp@yandex.ru, ORCID 0000-0002-4356-9200

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

Sivkov A.V. – PhD, deputy director on scientific work of N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation. uroinfo@yandex.ru, ORCID 0000-0001-8852-6485

Голованов С.А. – д.м.н., руководитель группы клинической лабораторной диагностики научно-лабораторного отдела НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава, sergeygo124@mail.ru, ID 636685

Golovanov S.A. – Dr. Med. Sc., head of clinical laboratory group of scientific laboratory department of N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation. sergeygo124@mail.ru, ORCID 0000-0002-6516-4730

Дрожжева В.В. – с.н.с. группы клинической лабораторной диагностики научно-лабораторного отдела НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, drozhzhhevavv@mail.ru, ID 6967724

Drozhzheva V.V. – researcher of scientific laboratory department of scientific laboratory department of N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation. drozhzhhevavv@mail.ru

Самойлова С.И. – к.м.н., врач отделения патологической анатомии НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, sv_samoilova75@mail.ru, ID 705453

Samoilova S.I. – PhD, physician of the department of pathological anatomy of N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation. ORCID 0000-0003-4598-8625

Рабинович Э.З. – руководитель отдела исследований и стандартизации департамента инновационных препаратов компании АО «Фарм-Синтез». Rabinovich E.Z. – head of the research and standardization department of the innovative drugs department of Pharm-Synthesis company.

Соколов М.А. – заместитель руководителя департамента разработки препаратов компании АО «Фарм-Синтез»

Sokolov M.A. – deputy head of drug development department, Pharm-Synthesis company

Ефремов Г.Д. – к.м.н., зав. лабораторией патологической анатомии НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, efremov.gen@yandex.ru, ID 637962

Efremov G.D. – PhD, Head of the Department of pathological anatomy of N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation. efremov.gen@yandex.ru, ORCID 0000-0002-8822-8119

Вклад авторов:

Кирпатовский В.И. – разработка дизайна исследования

Сивков А.В. – разработка дизайна исследования

Голованов С.А. – анализ релевантных научных публикаций по теме, написание текста рукописи

Дрожжева В.В. – написание текста рукописи

Самойлова С.И. – определение аспектов, представляющих наибольший научный и практический интерес

Рабинович Э.З. – определение аспектов, представляющих наибольший научный и практический интерес

Соколов М.А. – определение аспектов, представляющих наибольший научный и практический интерес

Ефремов Г.Д. – получение и анализ статистических данных

Authors' contributions:

Kirpatovskiy V.I. – developing the research design

Sivkov A.V. – developing the research design

Golovanov S.A. – analysis of relevant literature, article writing

Drozhzheva V.V. – article writing

Samoilova S.I. – identification of aspects of the highest scientific and practical interest

Rabinovich E.Z. – identification of aspects of the highest scientific and practical interest

Sokolov M.A. – identification of aspects of the highest scientific and practical interest

Efremov G.D. – obtaining and analyzing statistical data

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование: Исследование проведено при финансовой поддержке АО «Фарм-Синтез».

Financing. The study was conducted with the financial support of «Pharm-Synthesis».

Статья поступила: 10.06.19.

Received: 10.06.19.

Принята к публикации: 10.07.19.

Accepted for publication: 10.07.19