

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-1-35-46>

Сравнительная характеристика эффективности профилактики прогрессирования ХПН с использованием терапии секретом эмбриональных клеток и трансплантации неонатальных тканей

АНАЛИТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

В.И. Кирпатовский¹, А.В. Сивков¹, С.А. Голованов¹, Г.Д. Ефремов¹, В.В. Дрожжева¹, Ж.В. Комарова¹, Е.В. Фролова², О.И. Аполихин¹, А.Д. Каприн^{3,4,5}

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 Всероссийский институт научной и технической информации РАН; д. 20, ул. Усиевича, Москва, 125315, Россия

³ ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; д. 4, ул. Королева, Калужская область, г. Обнинск, 249036, Россия

⁴ МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; д. 3, 2-ой Боткинский проезд, Москва, 125284, Россия

⁵ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; д. 6, ул. Миклухо-Маклая, Москва, 117198, Россия

Контакт: Кирпатовский Владимир Игоревич, vladkirp@yandex.ru

Аннотация:

Введение. Данные литературы и собственных исследований свидетельствуют, что терапия продуктами секреции низкодифференцированных клеток (секретом) оказывает выраженное нефропротективное действие как при остром, так и при хроническом повреждении почек. Учитывая, что источником комплекса сигнальных молекул, секретируемых низкодифференцированными клетками, являются ткани функционально и анатомически незрелых органов, находящихся в состоянии развития, возникает вопрос, насколько трансплантация тканей этих органов воспроизводит эффект терапии секретом стволовых клеток в отношении прогрессии хронической почечной недостаточности (ХПН).

Материал и методы. Эксперименты проведены на 40 аутобредных крысах-самцах массой 260-290 г, у которых моделировали ХПН путем резекции 4/5 функционально активной паренхимы почек. В 1-й серии (контроль) никаких лечебных действий не проводили. Во 2-й серии после моделирования ХПН проводили курс терапии препаратом «Целлекс», активным компонентом которого является секретом эмбриональных клеток головного мозга свиньи, в виде двух 10-дневных курсов с 10-дневным перерывом между ними. В 3-й и 4-й сериях сразу после моделирования ХПН под капсулу резецированной почки вводили ткань почки или яичка, полученную от новорожденных крысят (1-2 суток после рождения) в качестве источника низкодифференцированных клеток. Ткани разных органов были использованы для оценки выраженности тканеспецифичного эффекта терапии.

Результаты. Через 7 суток после моделирования ХПН во всех сериях выявили ухудшение более чем в 2 раза всех функциональных показателей. Через 1 месяц в контрольной и во 2-й и 3-й сериях выявлена тенденция к возрастанию скорости клубочковой фильтрации (СКФ), не достигшая статистической значимости, тогда как в 4-й серии рост СКФ оказался статистически достоверным. Через 2 месяца в контрольной серии произошло повторное снижение показателя СКФ, тогда как во всех опытных сериях СКФ продолжала возрастать или сохранялась на субнормальных значениях. Активность канальцевой реабсорбции натрия и кальция после значительного снижения через 7 дней к 1 месяцу в контрольной серии несколько возросла (но недостоверно), а через 2 месяца вновь снизилась до значений в 2 раза ниже нормы. Во всех опытных сериях через 1 и 2 месяца реабсорбция этих электролитов была на значениях, близких к норме. Улучшение было особенно выражено во 2-й и 4-й группах. Через 7 суток во всех сериях возросла активность внутриклеточных ферментов (аспаратаминотрансфераза (АСТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ)) в крови с постепенным снижением гиперферментемии через 2 месяца, более выраженным в 4-й группе, а также во всех опытных группах в отношении ЛДГ. При гистологическом исследовании состояния неонатальных трансплантатов выявили деструкцию пересаженной ткани почки и жизнеспособный тестикулярный трансплантат.

Заключение. Трансплантация ткани неонатальных органов под капсулу почки крысам с ХПН оказывает сопоставимый нефропротективный эффект с терапией секретом эмбриональных клеток (препарат Целлекс). Более выраженное улучшение функциональных показателей при пересадке тестикулярной ткани объясняется сохранением жизнеспособности трансплантата.

Ключевые слова: хроническая почечная недостаточность; терапия; секретом стволовых клеток; неонатальные ткани; трансплантация.

Для цитирования: Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Голованов С.А., Ефремов Г.Д., Дрожжева В.В., Комарова Ж.В., Фролова Е.В., Аполихин О.И., Каприн А.Д. Сравнительная характеристика эффективности профилактики прогрессирования ХПН с использованием терапии секретом эмбриональных клеток и трансплантации неонатальных тканей. *Экспериментальная и клиническая урология* 2024;17(1):35-46; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-1-35-46>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-1-35-46>

Comparative characteristics of the effectiveness of preventing the progression of CRF using therapy with secretome of embryonic cells and transplantation of neonatal tissues

ANALYTICAL STUDY

V.I. Kirpatovskiy¹, A.V. Sivkov¹, S.A. Golovanov¹, G.D. Efremov¹, V.V. Drozhzheva¹, Zh.V. Komarova¹, E.V. Frolova², O.I. Apolikhin¹, A.D. Kaprin^{3,4,5}

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 the Russian Federation; 51, 3-rd Parkovaya street, Moscow, 105425, Russia

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

³ National Medical Research Centre of Radiology of Ministry of health of Russian Federation; 4, st. Koroleva, Kaluga region, Obninsk, 249036, Russia

⁴ P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute - branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation; 3, 2nd Botkinskiy proezd, Moscow, 125284, Russia

⁵ RUDN University; 6, st. Miklukho-Maklaya, Moscow, 117198, Russia

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

Summary:

Introduction. Literature data and our own research indicate that therapy with immature cell secretion products (secretome) has a pronounced nephroprotective effect both in acute kidney injury and in chronic renal failure (CRF). Considering that the source of the complex of signaling molecules stimulating reparative processes in organs are low-differentiated cells of functionally and anatomically immature organs in a state of development, the question arises to what extent tissue transplantation of these organs reproduces the effect of therapy with a secretome of stem cells in relation to the progression of CRF.

Material and methods. The experiments were carried out on 40 outbred male rats weighing 260-290 g, in which CRF was modeled by resection of 4/5 functionally active renal parenchyma. In the 1st series (control), no therapeutic actions were performed. In the 2nd series, after modeling CRF, a course of therapy with Cellex, the active component of which is the secretome of pig embryonic brain cells, was carried out in the form of 2 10-day courses with a 10-day break between them. In the 3rd and 4th series, immediately after CRF modeling, kidney or testicle tissue obtained from newborn baby rats (1-2 days after birth) was injected under the capsule of the resected kidney as a source of immature cells. Tissues of different organs were used to assess the severity of the tissue-specific effect of therapy.

Results. 7 days after the modeling of CRF in all series, a deterioration of more than 2 times of all functional parameters was revealed. After 1 month, in the control and in the 2nd and 3rd series, a tendency to an increase in GFR was revealed, which did not reach statistical significance, whereas in the 4th series, the increase in GFR turned out to be statistically significant. After 2 months in the control series, there was a repeated decrease in the GFR index, whereas in all experimental series, GFR continued to increase or remained at subnormal values. The activity of tubular reabsorption of sodium and calcium after a significant decrease after 7 days to 1 month in the control series increased slightly (but unreliably), and after 2 months they again decreased to values 2 times lower than normal. In all experimental series, after 1 and 2 months, the reabsorption of these electrolytes was at values close to normal. The improvement was especially pronounced in groups 2 and 4. After 7 days, the activity of intracellular enzymes (aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH)) in the blood increased in all series with a gradual decrease in hyperfermentemia after 2 months, more pronounced in group 4, as well as in all experimental groups with respect to LDH. Histological examination of the condition of neonatal transplants revealed the destruction of transplanted kidney tissue and a viable testicular graft.

Conclusion. Transplantation of neonatal organ tissue under a kidney capsule to rats with CRF has a comparable nephroprotective effect with therapy with the secretome of embryonic cells (Cellex drug). A more pronounced improvement in functional parameters during testicular tissue transplantation is explained by the preservation of the viability of the graft.

Key words: chronic renal failure; therapy; stem cell secretion; neonatal tissues; transplantation.

For citation: Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Golovanov S.A., Efremov G.D., Drozhzheva V.V., Komarova Zh.V., Frolova E.V., Apolikhin O.I., Kaprin A.D. Comparative characteristics of the effectiveness of preventing the progression of CRF using therapy with secretome of embryonic cell and transplantation of neonatal tissues. *Experimental and Clinical Urology* 2024;17(1):35-46; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-1-35-46>

ВВЕДЕНИЕ

Одним из перспективных развивающихся направлений терапии хронических заболеваний жизненно-важных органов, в том числе почек, является стимуляция регенерации поврежденных клеточных и тканевых структур с использованием пересадки культивированных

низкодифференцированных стволовых/прогениторных клеток различного происхождения или с помощью терапии продуктами их секреции [1-3]. При этом накоплено много данных о том, что терапевтический эффект клеточной терапии реализуется преимущественно за счет секреции этими клетками комплекса биоактивных (сигнальных) молекул (низко-

молекулярных белков и пептидов), регулирующих направленность клеточного метаболизма (цитокинов, факторов роста, стимуляторов ангиогенеза, антиапоптотических факторов и др.), получившего название «секретом» [4, 5]. Изучению эффективности терапии с использованием пептидов, выделенных из разных тканей, уделяется большое внимание как в зарубежных центрах [6], так и в России [7, 8]. Разработан целый ряд подобных препаратов. Показано, что на молекулярном уровне пептиды, составляющие активный компонент этих препаратов, взаимодействуют со специфическими сайтами ДНК, регулируют экспрессию генов, что обеспечивает направленную дифференцировку стволовых/прогениторных клеток с активацией синтеза специфических белков, стимулирующих клеточную пролиферацию и оказывающих антиапоптотическое и противовоспалительное действие [8].

К такому роду препаратов относится препарат Целлекс, представляющий собой белково-пептидный комплекс, хроматографически выделенный из нейрональных клеток головного мозга эмбрионов свиней. В ранее проведенных исследованиях нами было показано, что терапия этим препаратом крыс с индуцированной постишемической острой почечной недостаточностью и хронической почечной недостаточностью уменьшает выраженность функциональных расстройств и морфологических изменений в клубочках и канальцах почки, а также препятствует прогрессированию хронического патологического процесса [9, 10].

Учитывая, что источником комплекса сигнальных молекул, стимулирующих репаративные процессы, являются низкодифференцированные клетки функционально и анатомически незрелых органов, находящихся в состоянии развития, возникает вопрос, насколько возможно заменить технологически сложные методики выделения секрета стволовых/прогениторных клеток на трансплантацию неонатальных тканей, содержащих низкодифференцированные клетки в большом количестве.


Дополнительным аргументом целесообразности такой постановки вопроса является то, что, согласно современным представлениям для обеспечения функциональной активности стволовых/прогениторных клеток, необходимо сохранение специфического их микроокружения («ниши»), состоящего из внеклеточного матрикса и специфических сигнальных молекул, поддерживающих жизнеспособность, секреторную активность и направленную дифференцировку этих клеток, что имеет место при тканевой трансплантации [11-13]. Принцип формирования микрониши для стволовых клеток в настоящее время широко используется в исследованиях по созданию биоинженерных конструкций, имитирующих различные тканевые структуры с целью их последующей имплантации [14-16].

Сохранение специфического микроокружения может улучшить выживаемость клеток в чужеродном организме и продлить их функциональную активность при условии минимизации иммунологической реакции на аллогенные или ксеногенные ткани. Уменьшения иммунной реакции можно достичь путем пересадки аллогенной или ксеногенной ткани в иммунопривлегированные зоны, в том числе под капсулу почки, под белочную оболочку яичка, в переднюю камеру глаза [17, 18].

Учитывая эти данные, нами ранее были проведены эксперименты по изучению способности ткани неонатальных почек, полученных от новорожденных крысят (1-2 сутки после рождения), пересаженной под капсулу почек взрослых крыс после их ишемического/реперфузионного повреждения, в которых было показано, что при этом достигался выраженный нефропротективный эффект [19]. Возможность длительного выживания пересаженного под капсулу почки неонатального трансплантата была продемонстрирована нами в опытах по пересадке ткани неонатального яичка, как свежеудаленной, так и криоконсервированной. Пересаженная тестикулярная ткань не только сохраняла жизнеспособность в течение 6 месяцев, но и происходило развитие незрелой ткани с формированием полноценных семенных канальцев, а также зачатков придатка яичка и семявыносящего протока, что свидетельствовало о паракринной стимуляции органогенеза [20]. При трансплантации под белочную оболочку крипторхированного яичка пересаженная ткань неонатального тестикула стимулировала регенерацию семенных канальцев с восстановлением нарушенного сперматогенеза и активировала нарушенный синтез тестостерона [21].

Учитывая эти предпосылки, целью данного исследования явилась оценка нефропротективного действия трансплантации неонатальных тканей (почки и яичка), пересаженных под капсулу почки в резекционной модели хронической почечной недостаточности в сравнении с терапией протеомным ксеногенным секретомом нейрональных клеток эмбрионального головного мозга (препарат Целлекс). Использование неонатальных тканей разных органов обусловлено наличием данных об орган-неспецифическом действии их секрета [22-24].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на 40 аутбредных крысах-самцах массой 260-290г. Животные содержались в стандартных условиях вивария с неограниченным доступом к полнорационному комбикорму для лабораторных грызунов (ООО «Лабораторкорм», Россия) и питьевой воде. Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с Европейской конвенцией о 

гуманном обращении с животными, используемыми для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123) и Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС о защите животных, использующихся для научных целей.

Для моделирования ХПН использовали «редукционную» модель. В условиях общей анестезии (внутрибрюшинное введение смеси Золетил-100 («Valdefarm», Франция) и Рометар («Биовета», Чешская республика) в соотношении 1:1 при расчетной дозе Золетила 15 мг/кг) выполняли правостороннюю нефрэктомия и резекцию верхнего и нижнего полюсов левой почки, в результате чего оставалось 18-25% функционирующей паренхимы органа.

Проведено 4 серии экспериментов по 10 животных в каждой серии. Первая серия служила контролем, и у этих крыс никаких лечебных мероприятий не проводили. Во 2-й серии животные получали терапию протеомным комплексом, хроматографически выделенным из нейрональных клеток головного мозга эмбрионов свиньи (ПКЭК), являющимся активным компонентом препарата «Целлекс», в виде двух десятидневных курсов с 10-дневным перерывом между ними с ежедневными подкожными инъекциями препарата в дозе 0,1 мл на крысу (0,1 мг действующего компонента). В 3-й и 4-й сериях сразу после моделирования ХПН под капсулу резецированной почки вводили ткань почки или яичка, полученных от новорожденных крысят (1-2 суток после рождения).

Субкапсулярную пересадку тканей выбрали в связи с тем, что эта локализация считается иммунологически привилегированной и уменьшает риск развития отторжения, которое неизбежно развивается при трансплантации аллогенного материала. При этом мы также учитывали, что, по ряду данных, эмбриональные, плодные и неонатальные ткани обладают меньшей иммуногенностью.

Органы новорожденных крысят удаляли в условиях эфирного наркоза в стерильных условиях. Эвтаназию проводили передозировкой паров эфира. Удаленные почки новорожденных крысят (3-я серия) после отмытия от крови измельчали до фрагментов порядка 0,5 мм и подвергали щадящей гомогенизации в физ. растворе в соотношении ткань/физ. раствор 1:1 до консистенции, позволяющей проходить через внутривенный катетер 18G Гомогенат вводили пункционно под капсулу почки в объеме 0,1 мл. Удаленные яички (4-я серия) освобождали от окружающей жировой ткани и с помощью микрохирургического инструментария, разрезали пополам и вводили в предварительно сформированный канал в подкапсулярном пространстве почки.

Оценку динамики биохимических показателей крови и мочи, характеризующих выраженность патологического процесса, оценивали через 7 дней после моделирования ХПН для характеристики ближайшей

реакции на резко повышенную нагрузку на орган, а также через 1 и 2 месяца. Для получения биоматериала животных (по 5 крыс из разных серий на каждый срок) высаживали в обменные клетки на 24 часа для определения суточного диуреза, после чего животных подвергали эвтаназии передозировкой наркотических средств, брали пробы крови и удаляли почки для гистологического исследования. Биохимические показатели крови и мочи проводили на автоматическом анализаторе «ADVIA-2000» (Siemens). Определяли концентрацию креатинина, мочевины, натрия, кальция, а также активность ряда ферментов (аспартатаминотрансферазу (АСТ), щелочную фосфатазу (ЩФ), лактатдегидрогеназу (ЛДГ)). Из полученных данных с помощью общеизвестных формул рассчитывали такие функциональные показатели, как скорость клубочковой фильтрации (СКФ), канальцевая реабсорбция натрия и кальция, суточная экскреция креатинина и ферментов. Гистологическое исследование проводили по стандартной методике с окрашиванием препаратов гематоксилином и эозином.

Статистическую обработку цифрового материала выполняли с помощью компьютерных программ Excel и Statistica.10. Цифровые данные для каждой серии выражали в виде среднего значения и ошибки средней ($M \pm m$). Статистически значимыми различиями между сравниваемыми группами признавались при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все животные после выполнения моделирования ХПН выжили и были выведены из эксперимента в запланированные сроки.

У всех подопытных крыс развилась полиурия, выраженность которой значительно возрастала в течение 1-ого месяца примерно в равной степени во всех сравниваемых группах. При этом в опытах с пересадкой ткани неонатального яичка через 2 месяца выявилась достоверная тенденция к нормализации диуреза, тогда как в остальных группах существенной динамики не произошло (табл. 1). В отношении концентрации мочевины в крови выявлена несколько иная динамика: максимальный подъем в первые 7 суток (примерно в 2,5 раза) с тенденцией к постепенному снижению через 1 и 2 месяца. При этом более выраженное снижение уровня мочевины в крови через 1 и 2 месяца также выявлено в серии опытов, где производили трансплантацию неонатальной тестикулярной ткани. В отношении концентрации креатинина также обнаружено значительное (почти в 2 раза) увеличение этого показателя через 7 суток с некоторым его снижением через 1 месяц и стабилизацией через 2 месяца. При этом существенных различий между всеми группами не было обнаружено.

Более информативными параметрами состояния функции поврежденного органа и влияния проводи-

мой терапии являются расчетные показатели, такие как СКФ (оценка фильтрационной функции) и реабсорбция натрия и кальция (оценка функции почечных канальцев).

Через 7 дней после резекции почки значения СКФ резко снижались с $1,64 \pm 0,22$ мл/мин в норме до $0,63-0,78$ мл/мин в разных сериях. При этом степень снижения в разных сериях достоверно не различалась (рис. 1). Через 1 месяц в контроле и в сериях 2 и 3 отмечено умеренное возрастание этого показателя примерно в равной степени, тогда как в 4-й серии (трансплантации тести-

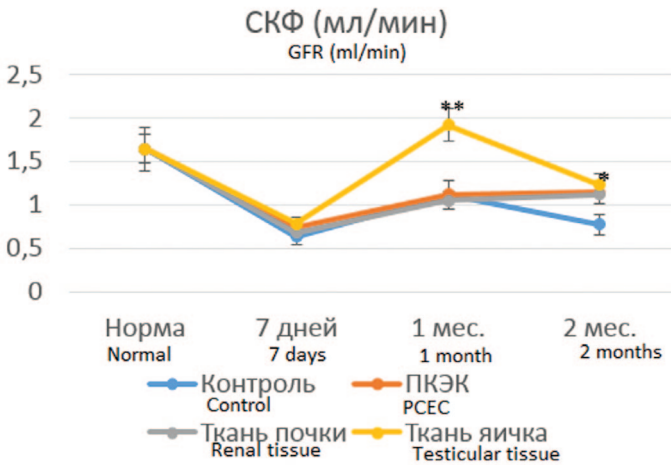


Рис. 1. Динамика СКФ в сравниваемых группах
Fig. 1. The dynamics of GFR in the compared groups

кулярной ткани) происходила полная нормализация СКФ. Через 2 месяца в контрольной серии СКФ вновь снижалась, а во всех опытных сериях она достоверно превышала контрольные значения, в том числе и в 4-й серии, где отмечено снижение СКФ по сравнению с 1-ым месяцем.

В отношении канальцевой реабсорбции натрия отмечалась похожая динамика (рис. 2). Через 7 дней после резекции почки во всех сериях происходило

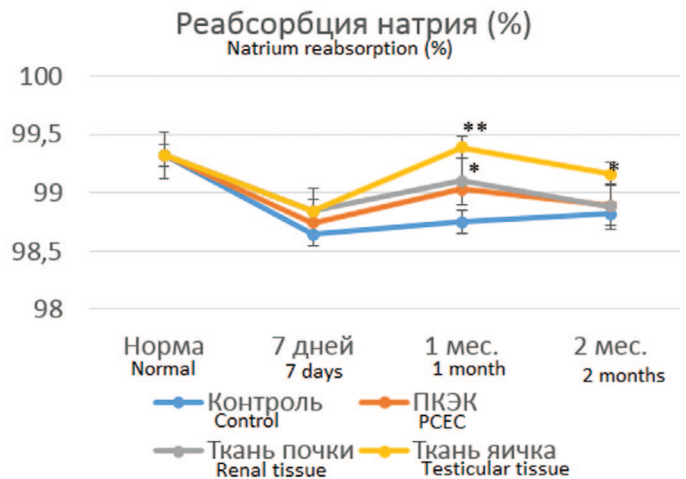


Рис. 2. Динамика канальцевой реабсорбции натрия (в процентах от профильтрованного количества) в сравниваемых группах.
Fig. 2. Dynamics of tubular sodium reabsorption (as a percentage of the filtered amount) in the compared groups

Таблица 1. Динамика диуреза и концентрации мочевины и креатинина в крови в сравниваемых группах
Table 1. Dynamics of diuresis and concentrations of urea and creatinine in the blood in the compared groups

Показатель Parameter	Норма Normal	Вид терапии Therapy	7 дней 7days	1 мес. 1 month	2 мес. 2 months
Диурез (мл/сутки) Diuresis (ml/day)	11,3 ± 0,2	Контроль Control	14,3 ± 0,2	27,5 ± 0,6	28,5 ± 0,6
		ПКЭК PCEC	15,1 ± 0,3	29,5 ± 0,7	24,7 ± 0,5*
		Ткань почки Renal tissue	14,9 ± 0,3	32,5 ± 0,7	32,1 ± 0,7*
		Ткань яичка Testicular tissue	13,9 ± 0,2	28,5 ± 0,6	20 ± 0,4***
Мочевина крови (мм/л) Blood Urea (mM/L)	6,8 ± 0,2	Контроль Control	16,7 ± 0,9	13,6 ± 0,7	11,5 ± 0,4
		ПКЭК PCEC	13,9 ± 0,7	13,3 ± 0,4	10,5 ± 0,3
		Ткань почки Renal tissue	14,8 ± 0,7	12,5 ± 0,6	12,8 ± 0,4
		Ткань яичка Testicular tissue	13,9 ± 0,6	9,6 ± 0,5*	8,3 ± 0,4**
Креатинин крови (мкмоль/л) Blood creatinine (mcumol/L)	60 ± 2	Контроль Control	112 ± 5	80 ± 3	82 ± 4
		ПКЭК PCEC	98 ± 3	81 ± 2	73 ± 3
		Ткань почки Renal tissue	116 ± 5	89 ± 3	94 ± 4
		Ткань яичка Testicular tissue	103 ± 4	80 ± 2	76 ± 4

Примечание. Различия достоверны по сравнению с контролем при: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$
ПКЭК – протеомный комплекс эмбриональных клеток
Note. The differences are significant compared to the control at: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$
PCEC – proteomic complex of embryonic cells

значительное уменьшение процентной доли реабсорбированного натрия без достоверных различий между контрольной и всеми опытными сериями (с 99,32% до 98,64%-98,84%). Через 1 и 2 месяца в контрольной серии отмечено незначительная тенденция к улучшению этого показателя, тогда как во всех опытных сериях через 1 месяц отмечено достоверное его возрастание, особенно выраженное в опытах с пересадкой тестикулярной ткани, где отмечена полная его нормализация, но ко 2-му месяцу различия между контрольной и опытными сериями сглаживались, оставаясь в серии с пересадкой тестикулярной ткани на достоверно более высоком уровне.

Реабсорбция кальция в контрольной серии нарушалась более значительно, уменьшаясь к 7 суткам с 99,68% до 95,94%, тогда как во всех опытных сериях степень снижения оказалась достоверно менее выраженной ($p < 0,05$ в опытах с пересадкой ткани неонатальной почки и $p < 0,001$ в опытах с терапией ПКЭК и пересадкой ткани неонатальных тестикул) (рис. 3). Через 1 месяц выраженный положительный эффект сохранялся во всех опытных сериях ($p < 0,001$), тогда как к 2 месяцам различия между контролем и опытными сериями исчезали за счет компенсации нарушений реабсорбции кальция в контрольных опытах.

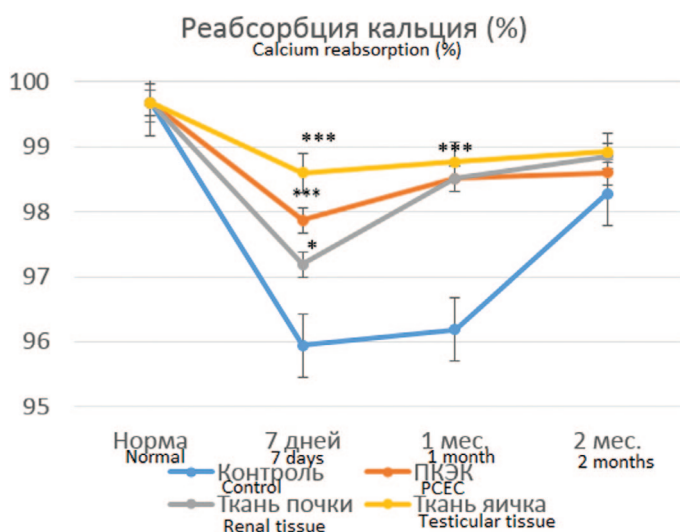


Рис. 3. Динамика канальцевой реабсорбции кальция (в процентах от профильтрованного количества) в сравниваемых группах
Fig. 3. Dynamics of tubular calcium reabsorption (as a percentage of the filtered amount) in the compared groups

Хотя процентное отношение реабсорбированных катионов по отношению к общему количеству профильтрованного в клубочках натрия и кальция является стандартным показателем состояния канальцевого аппарата почки, тем не менее при выраженном повреждении клубочков со снижением СКФ (что мы наблюдали в наших опытах) нагрузка на канальцевый эпителий по реабсорбции электролитов может значительно различаться. Чем в большей степени снижена СКФ, тем меньшая масса катионов поступает в первичную мочу (фильтрационный заряд), и тем полнее

эти катионы могут реабсорбироваться, тогда как при повышенной нагрузке на эпителий канальцев процент реабсорбции может быть снижен, но общая масса сохранных организмом электролитов может оставаться высокой. Поэтому мы также вычислили абсолютную массу реабсорбированного натрия и кальция, считая этот показатель более точным.

С этой целью мы рассчитали для каждой серии опытов количество профильтрованного в клубочках натрия и кальция, умножив показатель СКФ на концентрацию этих катионов в крови (фильтрационный заряд) и на процент реабсорбции этих катионов, и получили искомый показатель. Оказалось, что, действительно, имеются существенные различия между процентным и абсолютным количеством реабсорбированных натрия и кальция в сериях опытов (рис. 4А, Б). Если в контрольной серии процент реабсорбированных натрия и кальция с увеличением сроков наблюдения возрастал (более выражено в отношении реабсорбции кальция), что можно было бы рассматривать как свидетельство компенсации дисфункции

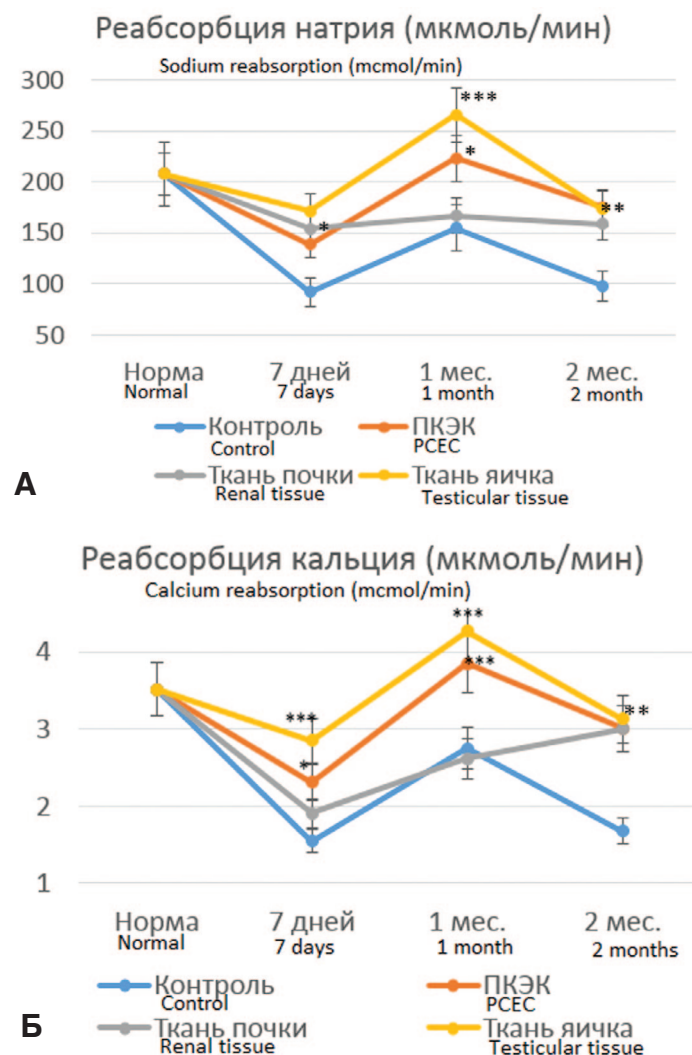


Рис. 4. Абсолютные значения скорости реабсорбции натрия (А) и кальция (Б) в сравниваемых группах
Fig. 4. Absolute values of the reabsorption rates of sodium (А) and calcium (Б) in the compared groups

канальцев, то в пересчете на абсолютное количество этих реабсорбированных катионов, после некоторого улучшения показателя через 1 месяц, к 2-м месяцам наступало снижение этих показателей, что, наоборот, указывает на декомпенсацию функциональных резервов эпителиальных клеток. При этом во всех опытных сериях уже через 7 дней после моделирования ХПН абсолютное количество реабсорбированного натрия в единицу времени оказалось достоверно больше, чем в контроле, что отличалось от процентных показателей, где различия оказались статистически недостоверными. Реабсорбция кальция в опытных сериях на этом сроке наблюдения оказалась выше контрольных значений при обоих вариантах расчета этого показателя. Через 2 месяца во всех опытных сериях показатель абсолютной реабсорбции как натрия, так и кальция, оказался достоверно выше контрольных значений, в отличие от процентного показателя, где различия с контролем оказа-

лись достоверными только для реабсорбции натрия в серии с пересадкой тестикулярной ткани.

Таким образом, все изучаемые варианты нефропротекции оказали существенный положительный эффект, уменьшив выраженность нарушения функции как клубочкового, так и канальцевого аппарата почки и предотвращая прогрессирование патологического процесса в отдаленном периоде.

Также важными показателями выраженности повреждения почки является активность внутриклеточных ферментов в крови, которая отражает масштабность цитолиза. Определение активности изученных ферментов в крови показало, что их активность, за исключением АЛТ, через 7 суток после резекции почки возрастала, что указывало на выраженное клеточное повреждение, вызванное острой функциональной перегрузкой органа. При этом достоверных различий между всеми сериями выявлено не было (табл. 2).

Таблица 2. Динамика активности ферментов в крови крыс в сравниваемых сериях (МЕ/л)
Table 2. Dynamics of enzyme activity in the blood of rats in the compared series (IU/l)

Вид терапии Therapy	Норма Normal	7 дней 7days	1 мес. 1 month	2 мес. 2 months
АСТ / AST				
Контроль Control	68±14	140±25	85±14	90±15
ПКЭК PCEC		123±19	87±16	78±12
Ткань почки Renal tissue		165±22	86±17	83±14
Ткань яичка Testicular tissue		109±19	38±11*	73±11
АЛТ / ALT				
Контроль Control	36±4	34±3	58±5	42±5
ПКЭК PCEC		32±3	37±3*	38±3
Ткань почки Renal tissue		45±4	40±4	32±3
Ткань яичка Testicular tissue		34±2	38±2*	27±2*
ЩФ / Alkaline phosphatase				
Контроль Control	169±29	256±36	172±27	190±22
ПКЭК PCEC		218±31	253±33	180±19
Ткань почки Renal tissue		315±44	226±30	158±18
Ткань яичка Testicular tissue		197±29	155±19	121±14*
ЛДГ / LDH				
Контроль Control	320±33	569±41	378±31	928±122
ПКЭК PCEC		517±39	313±28	339±41**
Ткань почки Renal tissue		673±54	402±38	370±48**
Ткань яичка Testicular tissue		497±36	548±41	339±37**

Примечание. достоверность различий по сравнению с контрольной серией: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$
 Note. significance of differences compared to the control series: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Через 1 месяц активность всех ферментов снижалась до субнормального или нормального уровня, причем в опытах с пересадкой ткани неонатальной почки активность АЛТ снижалась более значительно, чем в контрольной серии, а в опытах с пересадкой тестикулярной ткани достоверные различия с контролем получены в отношении степени снижения АСТ и АЛТ. Через 2 месяца в контрольной группе опытов происходило резкое повышение активности ЛДГ в крови, тогда как активность остальных ферментов оставалась на значениях, близких к норме. Во всех опытных сериях активность ЛДГ была на уровне нормальных значений и достоверно отличалась от значений контрольных опытов ($p < 0,01$). При определении активности остальных изученных ферментов достоверные различия с контролем получены лишь в опы-

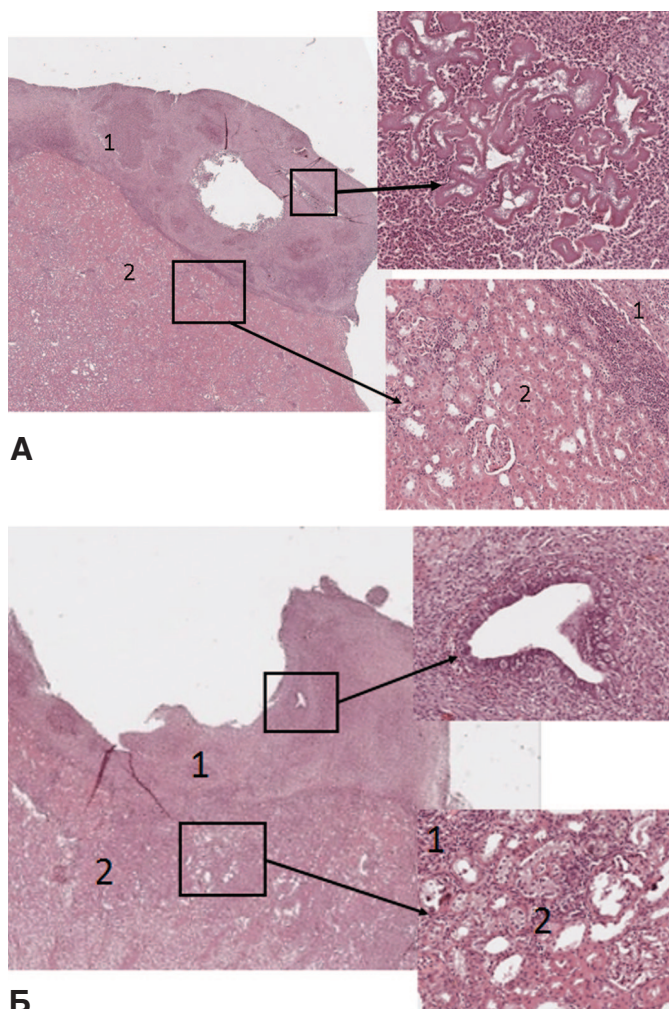


Рис. 5. Почки с трансплантатом неонатальной почечной ткани. А – через 1 месяц после пересадки. Субтотальная деструкция с массивной воспалительной инфильтрацией и с сохранившимися отдельными группами дистрофически измененных канальцев. Б – через 2 месяца после пересадки. Полная деструкция трансплантата с единичным сохранившимся почечным канальцем. Окраска гематоксилином и эозином. 1 – трансплантат неонатальной ткани почки. 2 – ткань почки реципиента. Ув. 60х. В выделенных фрагментах – Ув. 100х

Fig. 5. Kidney from neonatal renal tissue transplants. A – 1 month after the transplant. Subtotal destruction with massive inflammatory infiltration and with preserved separate groups of dystrophically altered tubules. B – 2 months after the transplant. Complete destruction of the graft with a single preserved renal tubule. H&E. 1 – neonatal kidney tissue transplant. 2 – recipient's kidney tissue. x 60. In the selected fragments – x 100

тах с пересадкой тестикулярной ткани в отношении АЛТ и ЩФ.

Для определения состояния пересаженной неонатальной ткани и прилегающей паренхимы почки провели гистологическое исследование удаленного органа через 1 и 2 месяца после трансплантации. Оказалось, что в опытах с трансплантацией гомогената ткани неонатальной почки происходила прогрессирующая деструкция пересаженной ткани. Через 1 месяц сохранялись лишь единичные группы почечных канальцев в разной степени деградации (рис. 5А). Трансплантат отделялся от паренхимы почки выраженной капсулой. Ткань почки, прилежащей к трансплантату, выглядела малоизмененной при умеренной степени воспалительной инфильтрации интерстиция. Через 2 месяца происходила полная деструкция трансплантата, но при этом сохранялись единичные жизнеспособные канальцы (рис. 5Б). В ткани почки, непосредственно прилежащей к трансплантату, наблюдалась умеренно выраженная воспалительная ин-

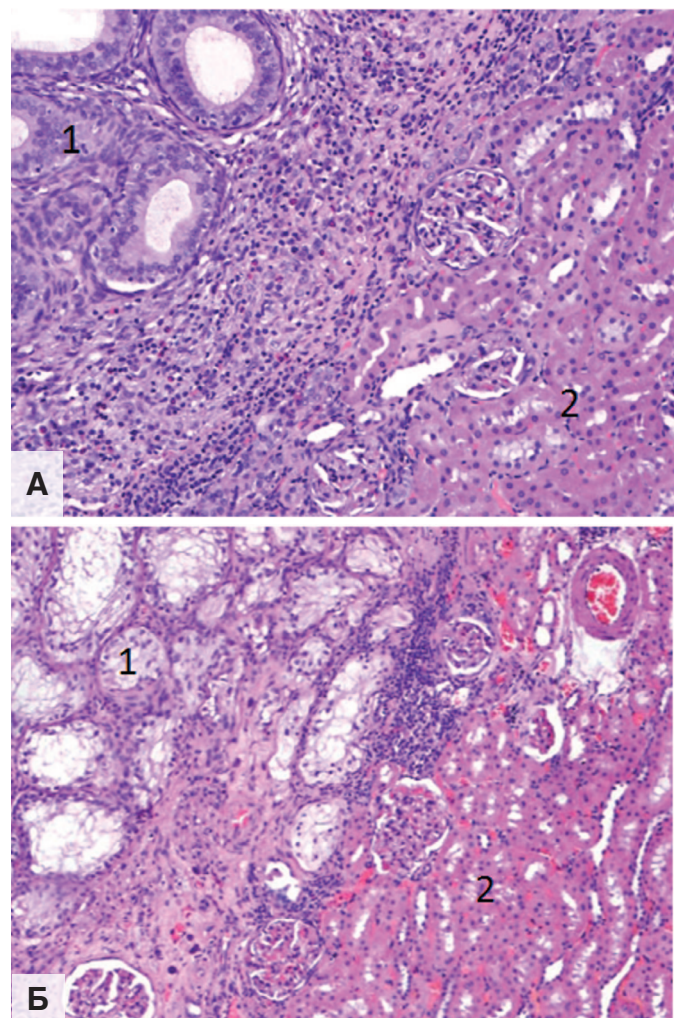


Рис. 6. Почки с трансплантатом ткани неонатального яичка. А – через 1 месяц после пересадки. Б – через 2 месяца после пересадки. 1 – трансплантат неонатального яичка. 2 – ткань почки реципиента. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100х

Fig. 6. The kidney with a neonatal testicular tissue transplant. A – 1 month after the transplant. B – 2 months after the transplant. 1 – neonatal testicular transplant. 2 – recipient's kidney tissue. H&E. x 100

фильтрация. Эпителий почечных канальцев был в состоянии дистрофии разной степени выраженности. В более отдаленной зоне гистологическая картина была близка к норме.

Совершенно иная гистологическая картина выявлена при трансплантации ткани неонатального яичка. Через 1 месяц под капсулой почки выявлены группы жизнеспособных семенных канальцев на ранних стадиях развития с сохраненным сперматогенным эпителием с наличием диффузного воспалительного инфильтрата в окружающей интерстициальной ткани. При этом прилежащая ткани почки выглядит практически нормальной (рис. 6А). Через 2 месяца выявляются множественные семенные канальцы с признаками активного сперматогенеза при незначительно выраженной инфильтрации интерстиция. Прилегающая к трансплантату ткань почки выглядит гистологически нормальной при полнокровии кровеносных сосудов (рис. 6Б).

Таким образом, если пересаженная неонатальная почечная ткань подвергается отторжению и деструкции, то неонатальная тестикулярная ткань длительное время сохраняет не только жизнеспособность, но и способность к дальнейшему развитию.

ОБСУЖДЕНИЕ

Возможности «бесклеточной терапии» продуктами секреции стволовых/прогениторных клеток (секретомом) для восстановления функции органов, в том числе почек, при их хронических заболеваниях привлекают все большее внимание исследователей [3, 4]. Секретом низкодифференцированных клеток можно выделять из среды культивирования этих клеток, а также непосредственно из тканей эмбрионов и плодов, что является более эффективным. Учитывая это, сами плодные ткани можно рассматривать как потенциальный инструмент паракринной стимуляции клеточной регенерации при их пересадке в организм при условии сохранения их жизнеспособности.

В последние две декады 20-го века трансплантация тканей, полученных от эмбрионов и плодов, рассматривалась как потенциальный метод лечения различных заболеваний [25]. Хотя в то время только начиналось изучение роли стволовых/прогениторных клеток в органогенезе и регенерации тканей, тем не менее были получены данные о способности клеток плодных тканей к активной регенерации, направленной дифференцировке, способности стимулировать неангиогенез, секретировать нейротрофические факторы [26]. Проводились исследования по трансплантации плодной ткани поджелудочной железы и выделенных из нее островков Лангерганса, как в эксперименте, так и в клинической практике больным диабетом [27-30], пересаживали фрагменты ткани плодной

печени для стимуляции гемопоэза или коррекции метаболических нарушений, связанных с дисфункцией печени [31, 32], микрофрагменты надпочечников или участков головного мозга для лечения болезни Паркинсона [33, 34], трансплантации ткани неонатальных яичников [35], тестикулярной ткани [36] и ткани гипофиза [37]. При этом авторы отмечали положительный эффект, однако в большинстве случаев он носил относительно кратковременный характер в связи с тем, что, хотя плодные ткани обладают меньшей иммуногенностью, чем ткани взрослого организма, тем не менее они все же со временем подвергаются отторжению и деструкции [38].

В 21-м веке в связи с развитием клеточных технологий и изменением юридических норм возможности использования тканей эмбрионов и плодов интерес к тканевой трансплантации плодных тканей существенно уменьшился, но все же появляются публикации по этой теме, в частности, по трансплантации овариальной ткани [39], композитных сосудистых комплексов [40], фрагментов головного мозга [41].

В связи с этим мы посчитали важным сравнить нефропротективное действие препарата Целлекс, активным компонентом которого является секретом нейрональных клеток эмбрионов свиньи (ПКЭК), и эффект от трансплантации органоспецифичной (почка) и орган-неспецифичной (тестикул) плодной ткани, пересаженной в иммунопривилегированную зону (под капсулу почки), что должно было способствовать длительному выживанию клеток трансплантата.

Результаты проведенных экспериментов показали, что такая трансплантация ткани неонатальных органов оказывает не менее выраженный нефропротективный эффект при экспериментально вызванной ХПН, что и терапия ПКЭК, а трансплантация ткани неонатального тестикула приводит к даже более значительному улучшению функции почки. На наш взгляд, более раннее улучшение всех показателей функции поврежденной почки в опытах с пересадкой ткани неонатального яичка может быть связано с действием в ранний период секреторируемого трансплантатом тестостерона, обладающего, как известно, вазодилатирующими свойствами [42, 43], что может улучшать внутривисцеральную гемодинамику, и, как следствие, увеличивать СКФ. В более отдаленном периоде за счет регулирующих эндокринных механизмов этот эффект нивелируется.

Проведенное гистологическое исследование показало, что неонатальный почечный трансплантат через 1 месяц подвергся субтотальной деструкции с сохранением отдельных групп жизнеспособных почечных канальцев, а через 2 месяца выявлялись лишь единичные жизнеспособные канальцы с сохраненной эпителиальной выстилкой. Однако при этом нефропротективный эффект пересадки сохранялся на протяжении

длительного срока даже с тенденцией к его возрастанию к 2-месячному сроку наблюдения. Это может свидетельствовать, что стимуляция репаративных процессов в почке, индуцированная продуктами секреции неонатального трансплантата, может продолжаться и после прекращения их влияния вследствие гибели трансплантата за счет происшедшей перестройки клеточного метаболизма. При пересадке ткани неонатального яичка трансплантат длительно сохранял свою жизнеспособность, что может объяснить более выраженный нефропротективный эффект, выявленный через 1 месяц после пересадки за счет непрерывной поступления сигнальных молекул, стимулирующих регенерацию почечных структур. Некоторое снижение функциональных показателей к 2-месячному сроку может быть обусловлено как со снижением стимуляции в связи с более зрелой дифференцировкой структур трансплантата, так и с включением собственных механизмов регуляции метаболизма в клетках почки. В опытах с терапией крыс ПКЭК также наблюдали, что нефропротективный эффект сохранялся после прекращения терапии, продолжаясь в течение 1 месяца, и возрастал к 2-месячному сроку.

То есть, при всех вариантах терапии, использованных в наших экспериментах, индукция метаболической перестройки в клетках поврежденной почки приводит к стойкой активации компенсаторно-приспособительных процессов, обеспечивающих улучшение и стабилизацию функцию органа после прекращения терапевтического воздействия, что предупреждает прогрессирование ХПН.

Деструкция пересаженной ткани неонатальной почки может быть связана как с гипоксическим повреждением, поскольку почка плода уже участвует в образовании мочи, что является энергозатратным процессом и требует адекватной оксигенации ткани, так и за счет развивающегося иммунного отторжения в связи с иммуногенностью почечной ткани [44]. В то же время, эндокринные ткани, к которым можно отнести плодный тестикул, состоящий преимущественно из интерстициальной ткани, содержащей гормон-проду-

цирующие клетки Лейдига и ограниченное количество незрелых семенных канальцев, в которых пока отсутствует сперматогенез, более устойчивы к гипоксии и менее иммуногенны (эпителий семенных канальцев защищен от иммунного конфликта клетками Сертоли). Это позволяет длительно сохранять жизнеспособность тестикулярного трансплантата и способность секретировать клетками биологически активные субстанции.

Гистологическое исследование также показало, что вокруг некротизированного почечного трансплантата через 1 месяц формировалась выраженная фиброзная капсула, а в прилежащих отделах ткани собственной почки выявляли выраженный воспалительный инфильтрат, который становился более интенсивным через 2 месяца после пересадки. В зоне воспалительного инфильтрата почечные канальцы находились в состоянии дистрофии разной степени выраженности. При этом в остальной части почечной паренхимы воспалительных изменений не выявляли, а почечные структуры выглядели малоизмененными. В опытах с пересадкой тестикулярной ткани воспалительные изменения были значительно менее выражены, а паренхима почки выглядела нормальной даже в участках, прилежащих к трансплантату. Эти данные свидетельствуют, что даже полная деструкция трансплантата приводит лишь к локальному воспалительному эффекту, не оказывая существенного негативного влияния на орган, также как и при сохранении жизнеспособности пересаженной ткани.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что трансплантация неонатальной ткани (почки, яичка) позволяет предотвратить прогрессирование ХПН в сопоставимой степени (а по некоторым параметрам в большей степени) с терапией ПКЭК. При этом подтвердился тезис об орган-неспецифичном действии продуктов секреции низкодифференцированных клеток в отношении стимуляции регенерации и восстановления функции поврежденных органов. ■

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Li JS, Li B. Renal injury repair: how about the role of stem cells. *Adv Exp Med Biol* 2019;1165:661-70. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8871-2_32.
- Rota C, Morigi M, Cerullo D, Introna M, Colpani O, Corna D, et al. Therapeutic potential of stromal cells of non-renal or renal origin in experimental chronic kidney disease. *Stem Cell Res Ther* 2018;9(1):220. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0960-8>.
- Golle L, 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(1):9444. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09883-x>.
- 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. <https://doi.org/10.21037/atm.2017.03.50>.

- Xia J, Minamino S, Kuwabara K, Arai S. Stem cell secretome as a new booster for regenerative medicine. *Biosci Trends* 2019;13(4):299-307. <https://doi.org/10.5582/bst.2019.01226>.
- Chouaib B, Haack-Sørensen M, Chaubron F, Cuisinier F, Collart-Dutilleul PY. Towards the standardization of mesenchymal stem cell secretome-derived product manufacturing for tissue regeneration. *Int J Mol Sci* 2023;24(16):12594. <https://doi.org/10.3390/ijms241612594>.
- Пушкарь Д.Ю., Гамидов С.И., Гомберг В.Г., Гураль А.К., Евдокимов М.С., Касян Г.Р. и соавт. Везустим: первые результаты применения в рамках клинического исследования у пациентов с гиперактивным мочевым пузырем. *Эксперименталь-*

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- ная и клиническая урология 2020;(3):34-5. [Pushkar D.Ju., Gamidov S.I., Gomberg V.G., Gural A.K., Evdokimov M.C., Kasyan G.R., et al. Vesutum: the first results of use in a clinical trial in patients with an overactive bladder. *Экспериментальная и клиническая урология = Experimental and Clinical Urology* 2020;(3):34-5. (In Russian)]. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2020-12-3-34-35>
8. Хавинсон В.Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клиническая медицина* 2020;98(3):165-77. [Khavinson V.H. Medicinal peptide preparations: past, present, future. *Klinicheskaya meditsina = Clinical medicine* 2020;98(3):165-77. (In Russian)].
9. Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Голованов С.А., Дрожжева В.В., Самойлова С.И., Рабинович Э.Э., и соавт. Профилактика развития острой постишемической почечной недостаточности с использованием белково-пептидного комплекса эмбриональной ткани. *Экспериментальная и клиническая урология* 2019;(3):32-9. [Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Golovanov S.A., Drozhzheva V.V., Samoilova S.I., Rabynovich E.Z., et al. Prevention of the development of acute post-ischemic renal insufficiency using a protein-peptide complex of embryonal tissue. *Экспериментальная и клиническая урология = Experimental and Clinical Urology* 2019;(3):32-9. (In Russian)]. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2019-11-3-32-39>.
10. Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Соколов М.А., Голованов С.А., Дрожжева В.В., Синюхин В.Н., и соавт. Терапия ксеногенным протеомным комплексом из эмбриональных клеток головного мозга тормозит прогрессирование экспериментально вызванной хронической почечной недостаточности. *Экспериментальная и клиническая урология* 2023;16(3):26-37. [Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Sokolov M.A., Golovanov S.A., Drozhzheva V.V., Sinyukhin V.N., et al. Therapy with xenogenic proteomic complex from embryonic brain cells inhibits the progression of experimentally induced chronic renal failure. *Экспериментальная и клиническая урология = Experimental and Clinical Urology* 2023;16(3):26-37. (In Russian)]. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-3-26-37>
11. Hicks MR, Pyle AD. The emergence of the stem cell niche. *Trends Cell Biol* 2023;33(2):112-23. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2022.07.003>.
12. Hurwitz SN, Jung SK, Kurre P. Hematopoietic stem and progenitor cell signaling in the niche. *Leukemia* 2020;34(12):3136-48. <https://doi.org/10.1038/s41375-020-01062-8>.
13. Chacón-Martínez CA, Koester J, Wickström SA Signaling in the stem cell niche: regulating cell fate, function and plasticity. *Development* 2018;145(15):dev165399. <https://doi.org/10.1242/dev.165399>.
14. Cosgriff-Hernandez E, Timmins LH. Model-directed design of tissue engineering scaffolds. *ACS Biomater Sci Eng* 2022;8(11):4622-4. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.1c01386>.
15. Hassanzadeh P, Atyabi F, Dinarvand R. Tissue engineering: Still facing a long way ahead. *J Control Release* 2018;279:181-97. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.04.024>.
16. Zhang X, Zhang Y. Tissue engineering applications of three-dimensional bioprinting. *Cell Biochem Biophys* 2015;72(3):777-82. <https://doi.org/10.1007/s12013-015-0531-x>.
17. Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Immunobiology: the immune system in health and disease. 6th Edition. 2004. Garland Science. 848 p.
18. Куликов А.В., Кирпатовский И.Д., Куликов Д.А., Архипова Л.В., Смирнова Г.Н., Куликова П.А. Пересадка алло- и ксеногенных эндокринных тканей в иммунопривилегированные области организма. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* 2013;8(3):36. [Kulikov A.V., Kirpatovskiy I.D., Kulikov D.A., Arkhipova L.V., Smirnova G.N., Kulikova P.A. Transplantation of allo- and xenogenic endocrine tissues into immunoprivileged areas of the body. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya = Cellular Transplantation and Tissue Engineering* 2013;8(3):36. (In Russian)].
19. Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Голованов С.А., Дрожжева В.В., Фролова Е.В. Сравнительная характеристика протективного действия терапии белково-пептидным секретом эмбриональной ткани и трансплантации ткани неонатальной почки при острой постишемической почечной недостаточности. *Экспериментальная и клиническая урология* 2020;(1):28-35. [Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Golovanov S.A., Drozhzheva V.V., Frolova E.V. Comparative analysis of the protective therapeutic effect between embryonic tissue secretome - mixture proteins and peptides - and transplantation of neonatal kidney tissue in acute post-ischemic renal failure. *Экспериментальная и клиническая урология = Experimental and Clinical Urology* 2020;(1):28-35. (In Russian)]. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2020-12-1-28-35>
20. Кирпатовский В.И., Ефремов Г.Д., Фролова Е.В. Эктопический органогенез при аллотрансплантации ткани свежееудаленного или криоконсервированного неонатального яичка под капсулу почки крысы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2018;166(8):230-5. [Kirpatovskiy V.I., Efremov G.D., Frolova E.V. Ectopic organogenesis during allotransplantation of freshly removed or cryopreserved neonatal testis tissue under the capsule of a kidney of rats. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2018;166(8):230-5. (In Russian)].
21. Кирпатовский В.И., Ефремов Г.Д., Фролова Е.В., Кудрявцева Л.В. Стимуляция сперматогенеза и синтеза тестостерона путем аллотрансплантации неонатальной тестикулярной ткани под белочную оболочку крипторхированного яичка. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2018;166(10):495-501. [Kirpatovskiy V.I., Efremov G.D., Frolova E.V., Kudryavtseva L.V. Stimulation of spermatogenesis and synthesis of testosterone by allotransplantation of neonatal testicular tissue under the casing of the cryptorchid testis. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2018;166(10):495-501. (In Russian)].
22. Sagaradze G, Monakova A, Efimenko A. Potency assays for mesenchymal stromal cell secretome-based products for tissue regeneration. *Int J Mol Sci* 2023;24(11):9379. <https://doi.org/10.3390/ijms24119379>.
23. Rahimi B, Panahi M, Saraygord-Afshari N, Taheri N, Bilici M, Jafari D, Alizadeh E. The secretome of mesenchymal stem cells and oxidative stress: challenges and opportunities in cell-free regenerative medicine. *Mol Biol Rep* 2021;48(7):5607-19. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06360-7>.
24. Harrell CR, Fellabaum C, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N, Volarevic V. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome. *Cells* 2019;8(5):467. <https://doi.org/10.3390/cells8050467>.
25. Fine A. Transplantation of fetal cells and tissue: an overview. *Can Med Assoc J* 1994;151(9):1261-68.
26. Edwards RG. Fetal Tissue Transplants in Medicine, Cambridge University Press, Cambridge, England, 1992. 366 p.
27. Shumakov V.I., Shal'nev B.I., Blyumkin V.N., Shaletskii N.N., Babikova R.A., Danilov M.A. Heterografting cultures of human pancreatic islet cells in rats with experimental diabetes mellitus. *Bulletin Of Experimental Biology And Medicine* 1980;89(1):63-5.
28. Groth CG, Andersson A, Bjorken C, Gunnarsson R, Hellerström C, Lundgren G, et al. Transplantation of fetal pancreatic microfragments via the portal vein to a diabetic patient. *Diabetes* 1980;29(suppl 1):80-3.
29. Hu YF, Zhang H, Zhang HD, Shao AH, Li LX, Zhao BH. Clinical researches on islet transplantation in 20 patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Acad Med Wuhan* 1984;4(3):145-51. <https://doi.org/10.1007/BF02856867>.
30. Розенталь Р. Л., Штифт А. К., Ильинский И. М., Бицанс Я.Б., Фомина О.А. Лечение лабильных форм сахарного диабета трансплантацией культур островковых клеток поджелудочной железы. *Проблемы эндокринологии* 1988;34(1):10-2 [Rozenal' RL, Shtift AK, Il'inskiĭ IM, Bitsans Ia.B, Fomina O.A. Treatment of labile forms of diabetes mellitus by transplantation of cultured pancreatic islet cells. *Problemi Endocrinologii = Problems of Endocrinology* 1988;34(1):10-2. (In Russian)].
31. Harousseau JL, Devergie A, Lawler S, Gluckman E, Schaison G. Implant of fetal liver in severe bone marrow aplasia. *Nouv Rev Francaise D'Hematologie* 1980;22(Suppl.):572.
32. Zhu RP, Lin XY, Wang JT. Fetal hepatocellular suspension transfusion (FHST) in the treatment of chronic active hepatitis B. *Chung Hua Nei Ko Tsa Chih* 1990;29:419-21.
33. Hitchcock ER, Clough CG, Hughes RC, Kenny BG. Transplantation in Parkinson's disease: stereotactic implantation of adrenal medulla and foetal mesencephalon. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 1988;46:48-50. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9029-6_11.
34. Савельев С.В. Трансплантация эмбрионального головного мозга. *Архив патологии* 1992;54(11):43-6. [Saveliev S.V. Transplantation of the embryonic brain. *Arkhiv Patologii = Archive of Pathology* 1992;54(11):43-6. (In Russian)].
35. Carroll J, Gosden RG. Transplantation of frozen-thawed mouse primordial follicles. *Hum Reprod* 1993;8(8):1163-7. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a138221>.
36. Кирпатовский И.Д., Дендеберов Е.С. Способ лечения вторичного гипогонадизма. Патент на изобретение RU № 2177735. 2002 [Kirpatovskiy I.D., Dendeberov E.S. Sposob lecheniya vtorichnogo gipogonadizma. Patent RU № 2177735.2002 (In Russian)].
37. Дендеберов Е.С., Кирпатовский И.Д., Михалева Л.М. Новые подходы

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- к лечению крипторхизма, сочетающегося с вторичным гипогонадизмом. *Проблемы репродукции* 2001;(2):68. [Dendeberov E.S., Kirpatovskiy I.D., Mikhaleva L.M. New approaches to the treatment of cryptorchidism combined with secondary hypogonadism. *Problemi reproduktivnoy = Russian Journal of Human Reproduction* 2001;(2):68. (In Russian)].
38. Pidwell DJ, Burns C. The immunology of composite tissue transplantation. *Clin Plast Surg* 2007;34(2):303-17. <https://doi.org/10.1016/j.cps.2006.12.002>.
39. Meiwor D, Roness H, Kristensen SG, Andersen CY. Optimizing outcomes from ovarian tissue cryopreservation and transplantation: activation versus preservation. *Hum Reprod* 2015;30(11):2453-6. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev210>.
40. Tullius SG. Vascular composite tissue transplantation: achievements and challenges in a rapidly developing field. *Transpl Int* 2016;29(6):643. <https://doi.org/10.1111/tri.12792>.
41. Shen H, Chen X, Li X, Jia K, Xiao Z, Dai J. Transplantation of adult spinal cord grafts into spinal cord transected rats improves their locomotor function. *Sci China Life Sci* 2019;62(6):725-33. <https://doi.org/10.1007/s11427-019-9490-8>.
42. Kelly DM, Jones TH. Testosterone: a vascular hormone in health and disease. *J Endocrinol* 2013;217(3):R47-71. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0582>.
43. Davis SR. Testosterone and the heart: friend or foe? *Climacteric* 2024;27(1):53-9. <https://doi.org/10.1080/13697137.2023.2250252>.
44. Gaunt G, Ramin K. Immunological tolerance of the human fetus *Am J Perinatol* 2001;18(6):299-312. <https://doi.org/10.1055/s-2001-17861>.

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 радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; RINЦ Author ID 604441, <https://orcid.org/0000-0002-4356-9200>

Сивков А.В. – к.м.н., заместитель директора по научной работе НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; RINЦ Author ID 622663, <https://orcid.org/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 России; Москва, Россия; RINЦ Author ID 636685, <https://orcid.org/0000-0002-6516-4730>

Ефремов Г.Д. – к.м.н., заведующий научно-лабораторным отделом НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; RINЦ Author ID 637962, <https://orcid.org/0000-0002-8822-8119>

Дроздзьева В.В. – старший научный сотрудник научно-лабораторного отдела НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; RINЦ Author ID 696724

Комарова Ж.В. – аспирант НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; RINЦ Author ID 1202604

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

Аполикхин О.И. – д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН, директор НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; RINЦ Author ID 683661, <https://orcid.org/0000-0003-0206-043X>

Каприн А.Д. – д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, директор МНИОИ имени П.А.Герцена, зав. кафедрой онкологии и рентгенодиагностики им. В.П.Харченко РУДН, главный внештатный онколог Минздрава России; Москва, Россия; RINЦ Author ID 96775, <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

Вклад авторов:

Кирпатовский В.И. – концепция исследований, проведение экспериментов на животных, анализ результатов, 30%

Сивков А.В. – концепция исследований, разработка протокола исследования, 20%

Голованов С.А. – выполнение биохимических исследований, 10%

Ефремов Г.Д. – проведение гистологических исследований, 10%

Дроздзьева В.В. – выполнение биохимических исследований, 10%

Комарова Ж.В. – участие в экспериментах на животных, 5%

Фролова Е.В. – сбор и анализ литературных данных, корректура текста, 5%

Аполикхин О.И. – научное руководство, 5%

Каприн А.Д. – стратегия исследований, научное руководство, 5%

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Исследование проведено без финансовой поддержки.

Статья поступила: 04.12.23

Результаты рецензирования: 22.01.24

Исправления получены: 27.02.24

Принята к публикации: 28.02.24

Information about authors:

Kirpatovskiy V.I. – Dr. Sci., professor, chief scientific researcher of N. 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; RSCI Author ID 604441, <https://orcid.org/0000-0002-4356-9200>

Sivkov A.V. – PhD, Deputy Director of N. 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; RSCI Author ID 622663, <https://orcid.org/0000-0001-8852-6485>

Golovanov S.A. – Dr. Sci., head of clinical laboratory diagnostic group of scientific laboratory department, N. 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; RSCI Author ID 636685, <https://orcid.org/0000-0002-6516-4730>

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; RSCI Author ID 637962, <https://orcid.org/0000-0002-8822-8119>

Drozhdzheva V.V. – researcher of scientific Laboratory Department of N. 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; RSCI Author ID 696724

Komarova Zh.V. – postgraduate student of N. 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; RSCI Author ID 1202604

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 Scientific 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; RSCI Author ID 683661, <https://orcid.org/0000-0003-0206-043X>

Kaprin A.D. – Dr. Sci., professor, academician of RAS, general director of the National Medical Research Centre of Radiology of Ministry of health of Russian Federation, director of P.A. Herzen Institution, Head of Department of Oncology and Radiology named after V.P. Kharchenko of RUDN University; Moscow, Russia; RSCI Author ID 96775, <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

Authors' contributions:

Kirpatovskiy V.I. – concept of research, conducting experiments on animals, analysis of results, 30%

Sivkov A.V. – research concept, development of research protocol, 20%

Golovanov S.A. – performing biochemical studies, 10%

Efremov G.D. – carrying out histological studies, 10%

Drozhdzheva V.V. – carrying out biochemical studies, 10%

Komarova Zh.V. – participation in animal experiments, 5%

Frolova E.V. – collection and analysis of literary data, text proofreading, 5%

Apolikhin O.I. – scientific leadership, 5%

Kaprin A.D. – research strategy, scientific leadership, 5%

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

Financing. The article was published without financial support.

Received: 104.12.23

Peer review: 22.01.24

Corrections received: 27.02.24

Accepted for publication: 28.02.24