

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-4-24-36>

# Перспективы применения внеклеточных везикул, выделенных из мезенхимных стволовых клеток, в регенеративной урологии

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Я.Г. Иванова<sup>1</sup>, А.Н. Муравьев<sup>1,3</sup>, Т.И. Виноградова<sup>1</sup>, Н.В. Орлова<sup>1</sup>, А.Н. Ремезова<sup>1</sup>, А.А. Горелова<sup>2,5</sup>, А.И. Горбунов<sup>1</sup>, В.В. Шумко<sup>1</sup>, Н.М. Юдинцева<sup>4</sup>, Ю.А. Нащеккина<sup>4</sup>, В.О. Полякова<sup>1</sup>, П.К. Яблонский<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; д.2-4, Лиговский пр., Санкт-Петербург, 191036, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет; д.7/9, Университетская наб., Санкт-Петербург, 199034, Россия

<sup>3</sup> ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт»; д. 72, лит. А; Кондратьевский пр., Санкт-Петербург, 195271, Россия

<sup>4</sup> ФГБУН Институт цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН); д.4, Тихорецкий пр., Санкт-Петербург, 194064, Россия

<sup>5</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Петрова» Минздрава России; д. 68, ул. Ленинградская, пос. Песочный, Санкт-Петербург, 197758, Россия

**Контакт:** Иванова Янина Георгиевна, [ivanova.yana803@gmail.com](mailto:ivanova.yana803@gmail.com)

## Аннотация:

**Введение.** В последние десятилетия в области регенеративной медицины особый интерес вызывают мезенхимные стволовые клетки (МСК) и выделенные из них внеклеточные везикулы (ВВ-МСК). Последние опосредуют паракринное действие МСК, обуславливая противовоспалительные, проангиогенные, иммуномодулирующие, противифиброзные эффекты в поврежденных тканях/структурах/органах.

**Цель.** Изучить экспериментальные доклинические исследования по применению ВВ-МСК в урологии.

**Материалы и методы.** При поиске в медицинских базах данных Pubmed, Scolar по применению ВВ-МСК при повреждении почек найдено 8 доклинических исследований, на модели стриктур найдено 2 доклинических исследования, на модели стрессового недержания мочи найдено 3 публикации, при повреждении слизистой оболочки мочевого пузыря различной этиологии найдено 2 публикации.

**Результаты.** Действие ВВ-МСК, сопоставимое с самими МСК, хорошо отражено в широком массиве доклинических работ, посвященных изучению применения ВВ-МСК на моделях различных заболеваний. Применение ВВ-МСК представляется очень перспективным, в том числе и в связи с возможностью преодоления таких проблем клеточной терапии, как иммуногенность и онкогенность. Описанный терапевтический потенциал ВВ-МСК привлекает внимание и в области регенеративной урологии, где рассматривается их действие на моделях повреждения почек, стриктурах уретры, мочеточника, стрессового недержания мочи, лучевого цистита.

**Выводы.** В связи с полученными результатами актуальность дальнейшего изучения терапевтических возможностей ВВ-МСК в регенеративной урологии не вызывает сомнений. Требующими дальнейшего изучения остаются вопросы дозировки и наиболее эффективного пути и способа введения ВВ-МСК.

**Ключевые слова:** регенеративная урология; внеклеточные везикулы; мезенхимные стволовые клетки.

**Для цитирования:** Иванова Я.Г., Муравьев А.Н., Виноградова Т.И., Орлова Н.В., Ремезова А.Н., Горелова А.А., Горбунов А.И., Шумко В.В., Юдинцева Н.М., Нащеккина Ю.А., Полякова В.О., Яблонский П.К. Перспективы применения внеклеточных везикул, выделенных из мезенхимных стволовых клеток, в регенеративной урологии. Экспериментальная и клиническая урология 2024;17(4):24-36; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-4-24-36>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-4-24-36>

# Prospects for the administration of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells in regenerative urology

LITERATURE REVIEW

Ya.G. Ivanova<sup>1</sup>, A.N. Muraviov<sup>1,3</sup>, T.I. Vinogradova<sup>1</sup>, N.V. Orlova<sup>1</sup>, A.N. Remezova<sup>1</sup>, A.A. Gorelova<sup>2,5</sup>, A.I. Gorbunov<sup>1</sup>, V.V. Shumko<sup>1</sup>, N.M. Yudinseva<sup>4</sup>, Yu.A. Naschekina<sup>4</sup>, V.O. Polyakova<sup>1</sup>, P.K. Yablonsky<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of Russian Federation; 2-4, Ligovsky ave., Saint Petersburg, 191036, Russia

<sup>2</sup> Saint-Petersburg State University, 7/9, Universitetskaya embankment; St. Petersburg, 199034, Russia

<sup>3</sup> Private University «Saint-Petersburg Medico-Social Institute», Saint-Petersburg, Russian Federation; 72, lit. A; Kondratyevsky pr., Saint Petersburg, 195271, Russia

<sup>4</sup> Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences (RAS); 4, Tikhoretsky pr., Saint Petersburg, 194064, Russia

<sup>5</sup> N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Healthcare of Russian Federation; 68, Leningradskaya str., pos. Pesochny, Saint Petersburg, 197758, Russia

**Contacts:** Yanina G. Ivanova, [ivanova.yana803@gmail.com](mailto:ivanova.yana803@gmail.com)

### Summary:

**Introduction.** In recent decades, mesenchymal stem cells (MSCs) and extracellular vesicles (MSC-EVs) isolated from them have become of particular interest in the field of regenerative medicine. The latter mediate the paracrine action of MSCs, causing anti-inflammatory, proangiogenic, immunomodulatory, antifibrotic effects in damaged tissues/structures/organs

**The aim.** To study experimental preclinical studies on the use of MSC-EVs in urology.

**Materials and methods.** When searching the medical databases Pubmed, Scolar for the use of MSC-EVs in kidney damage, 8 preclinical studies were found, 2 preclinical studies were found on the stricture model, 3 publications were found on the stress urinary incontinence model, 2 publications were found for damage to the bladder mucosa of various etiologies.

**Results.** The effect of MSC- EVs, comparable to MSCs themselves, is well reflected in a wide array of preclinical studies devoted to the study of the use of MSC- EVs in models of various diseases. The use of MSC- EVs seems very promising, including in connection with the possibility of overcoming such problems of cell therapy as immunogenicity and oncogenicity. The described therapeutic potential of MSC- EVs attracts attention in the field of regenerative urology, where their effect was considered in models of kidney damage, strictures of the urethra, ureter, stress urinary incontinence, radiation cystitis.

**Conclusions.** In connection with the obtained results, the relevance of further study of the therapeutic possibilities of MSC- EVs in regenerative urology is beyond doubt. The issues of dosage and the most effective route and method of MSC- EVs administration remain to be further studied.

**Key words:** regenerative urology; extracellular vesicles; mesenchymal stem cells.

**For citation:** Ivanova Ya.G., Muraviov A.N., Vinogradova T.I., Orlova N.V., Remezova A.N., Gorelova A.A., Gorbunov A.I., Shumko V.V., Yudinseva N.M., Nashchekina Yu.A., Polyakova V.O., Yablonsky P.K. Prospects for the administration of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells in regenerative urology. *Experimental and Clinical Urology* 2024;17(4):24-36; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-4-24-36>

## ВВЕДЕНИЕ

За последние десятилетия в области регенеративной медицины сформировался мощнейший пул исследований, посвященных возможностям клеточной терапии посредством имплантации мезенхимных стволовых клеток (МСК) [1, 2].

Согласно минимальным критериям международного общества клеточной терапии, МСК относятся к мультипотентным стромальным клеткам, обладают пластичностью в стандартных условиях культивирования, экспрессируют поверхностные маркеры CD 105, CD 73, CD 90, дифференцируются в остеобласты, адипоциты и хондробласты *in vitro* [3]. Последнее свойство, присущее данной группе клеток, по мнению исследователей, должно было обеспечить восстановление поврежденного органа/ткани. Однако на данный момент парадигма сместилась в сторону повышения значимости паракринного действия МСК (посредством секретируемых факторов), которое опосредует противовоспалительные, проангиогенные, иммуномодулирующие, противofiброзные эффекты в поврежденных тканях/структурах/органах, регулируя таким образом процесс их восстановления [1, 4, 5].

В составе секретируемых факторов МСК центральную роль отводят внеклеточным везикулам (ВВ) [4, 5]. Последние представляют собой биологические структуры, окруженные мембраной из липидного бислоя, не способные к репликации, высвобождающиеся различными клетками и обнаруживающиеся во всех тканях и биологических жидкостях [6, 7]. В связи с возросшим интересом научного сообщества к данным биологическим агентам в 2011 году сформировано Международное общество, посвященное внеклеточным везикулам

(ISEV), которое вводит рекомендации с целью стандартизации выделения и характеристики ВВ [6].

ВВ содержат белки, липиды, генетический материал, которые могут доставляться окружающим клеткам, таким образом осуществляется межклеточная коммуникация и частично опосредуются эффекты МСК [7, 8]. При этом, все большую роль отводят передаче внеклеточными везикулами клеткам окружения различных микро-РНК [7-9].

Применение внеклеточных везикул из мезенхимных стволовых клеток (ВВ-МСК) в регенеративной медицине представляется очень перспективным в том числе и в связи с возможностью преодоления таких проблем клеточной терапии, как риски онкогенности и иммунологического отторжения [10, 11]. Действие ВВ-МСК, сопоставимое с самими МСК, хорошо отражено в широком массиве доклинических работ, посвященных изучению применения ВВ-МСК на моделях повреждения мышц, нервов, костей, хрящей, фиброза печени, инфаркта миокарда, ишемии нижних конечностей, острого респираторного дистресс-синдрома, язвенного колита, кишечных свищей, кожных ран и пр. [12-22].

В настоящем обзоре обсуждены перспективы применения ВВ-МСК в решении актуальных проблем урологии, представлены доклинические исследования, в которых оценен терапевтический потенциал ВВ-МСК на моделях повреждения почек, стриктурах уретры, мочеоточника, стрессового недержания мочи, лучевого цистита.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведен поиск на портале [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) по ключевым словам «mesenchymal stem cells» ■

(«мезенхимные стволовые клетки») или «mesenchymal stromal cells» («мезенхимные стромальные клетки») найдено более 1000 клинических исследований на различных стадиях. При поиске в медицинских базах данных Pubmed, Scholar по применению ВВ-МСК при повреждении почек найдено 8 доклинических исследований, на модели стриктур найдено 2 доклинических исследования, на модели стрессового недержания мочи найдено 3 публикации, при повреждении слизистой оболочки мочевого пузыря различной этиологии найдено 2 публикации.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Внеклеточные везикулы из мезенхимных стволовых при повреждении почек

Положила начало исследованиям в области применения ВВ-МСК при повреждении почечной ткани работа S. Bruno и соавт., в которой детально изучали действие последних как *in vitro*, так и *in vivo*. ВВ выделяли из человеческих МСК костного мозга (КМ) методом ультрацентрифугирования. В эксперименте, который осуществлялся *in vitro*, изучали способность ВВ-МСК оказывать протекцию на культуру клеток (КК) эпителия почечных канальцев в условиях апоптоза. Для его стимуляции КК инкубировали совместно с винкристином (100 нг/мл) или цисплатином (5 мкг/мл), без или с добавлением ВВ-МСК (30 мкг/мл). Через 48 часов после культивирования в вышеописанных условиях оценивали апоптоз с помощью анализа TUNEL. Выраженность последнего в среде с винкристином и цисплатином без добавления ВВ-МСК составила 65% и 90% соответственно, однако при культивировании совместно с ВВ-МСК его выраженность была почти в 2 раза меньше и оказалась 30% и 50%.

В эксперименте *in vivo* мышам (самцы породы SCID) воспроизводили острое повреждение почек (ОПП) путем внутримышечной инъекции гипертонического раствора глицерина, который опосредует токсическое и ишемическое повреждение почечных канальцев в связи с рабдомиолизом. В каждой группе было по 40 животных. Через 3 дня после индукции ОПП в хвостовую вену вводили 15 мкг ВВ-МСК, 75 тыс. МСК или физиологический раствор (контроль). Животных выводили из эксперимента через 3, 4, 5, 8 и 15 дней после индукции ОПП. Функциональное состояние почек оценивали по уровню биохимических параметров крови: мочевины и креатинина. Так, на 5-ые сутки после введения глицерина группа с применением ВВ-МСК показала значимо лучшие результаты в сравнении с контролем. Мочевина сыворотки составила  $60 \pm 12$  мг/дл, креатинин – 0,4 мг/дл, тогда как в группе без введения ВВ-МСК –  $145 \pm 20$  и

0,6 мг/дл соответственно ( $p < 0,05$ ). На 5-ые сутки после введения глицерина в группе без применения ВВ-МСК при гистологическом исследовании ткани почек наблюдались патологические изменения, полностью характерные для ОПП: распространенный некроз с отеком и вакуолизацией эпителия как проксимальных, так и дистальных канальцев, а также большое количество цилиндров в их просвете. При количественной оценке данных изменений выраженность канальцевого некроза составила  $3,27 \pm 0,34$  кл. в п.зр., а количество цилиндров –  $3,93 \pm 1,02$ . В группе с применением ВВ-МСК на пятые сутки после индукции ОПП патологические изменения оказались не столь значительными, выраженность канальцевого некроза составила всего  $0,24 \pm 0,06$  кл. в п.зр., а количество цилиндров –  $0,45 \pm 0,4$  ( $p < 0,05$ ). С помощью иммуногистохимического метода (ИГХ) оценивали выраженность пролиферации путем количественного определения позитивных клеток по ядерному антигену пролиферирующих клеток (PCNA) и 5-бром-2'-дезоксисуридину (BrdU). На 4-ые сутки после индукции ОПП 45 и 55 кл. в п.зр., тогда как в контроле – 20 и 30 соответственно. Важно отметить, что при оценке морфологических и функциональных изменений после ОПП между группами применения МСК и ВВ-МСК не было обнаружено статистически значимых отличий, в связи с этим результаты группы МСК нами не приводятся. На основании результатов данной работы исследователи заключают, что результаты ВВ-МСК сопоставимы с самими МСК и способствовали повышению резистентности к апоптозу эпителия почечных канальцев *in vitro*, а также улучшению функционального и морфологического статуса почек в условиях ОПП *in vivo*, которое сопровождалось повышением пролиферации почечных канальцев [23].

Впоследствии на моделях ОПП было показано нефропротективное действие внеклеточных везикул из мезенхимных стволовых клеток различного происхождения [24-26].

В работе Ying Zhou и соавт. показали действие внеклеточных везикул из человеческих мезенхимных стволовых клеток пуповины при токсическом повреждении эпителия почечных канальцев *in vitro* и *in vivo* [24]. ВВ выделялись методом ультрацентрифугирования и микрофльтрации. В эксперименте, который осуществлялся *in vitro*, клеточную линию с эпителиальной морфологией (NRK-52E), выделенной из почки крысы, культивировали совместно с 5 мкМ цисплатина в течение 6 часов, после чего культуральные растворы заменяли на 1 мл свежей среды с 160 мкг/мл ВВ-МСК или ВВ фибробластов легких человека соответственно. Через 24 часа производили ИГХ, целью которого было определение уровня главного маркера окислительного стресса – 8-ОН-дезоксигуанозина (8-ОНdG). Количество 8-ОНdG-позитивных клеток

было равно повышено в группах ВВ из фибробластов и без добавления ВВ и составляло 30 клеток, в то время как в клеточной культуре с ВВ-МСК определялось всего 10 8-ОНдG-позитивных клеток ( $p < 0,001$ ). Для определения концентрации глутатиона и малонового диальдегида (МДА) использовали белковый анализатор. В группе без добавления ВВ или с ВВ из фибробластов уровень глутатиона составил составил 10 нл/г, тогда как в клеточной культуре с ВВ-МСК – 18, что оказалось близко к значениям, фиксируемых без воздействия цисплатином (22 нл/г). Концентрация МДА в группе без добавления ВВ составила 2,7 нмоль/мг, а при применении ВВ-МСК – 1,9 ( $p < 0,001$ ). Определение уровней вышеуказанных маркеров окислительного стресса осуществлялось и на модели ОПП у половозрелых самок крыс Sprague–Dawley. В эксперименте участвовало 6 групп по 6 животных. Всем крысам (кроме контроля) однократно внутрибрюшинно вводился цисплатин в дозировке 6 мг/кг. Затем через 24 часа в капсулу обеих почек вводили однократно одно из перечисленного: фосфатно-солевой буфер, 200 мкг ВВ-МСК или 200 мкг ВВ из фибробластов. Животные выводились из эксперимента на 5-ые сутки после введения цисплатина. Результаты оценки уровней маркеров окислительного стресса в почечной ткани были комплементарны таковым в эксперименте *in vitro*. Таким образом, при введении ВВ-МСК уровни 8-ОНдG-позитивных клеток и МДА были достоверно ниже, чем в остальных группах ( $p < 0,001$ ), а глутатиона – выше ( $p < 0,01$ ). Методом ИГХ в исследуемых почках определяли выраженность апоптоза и пролиферации клеток эпителия канальцев путем маркировки терминальной трансферазы (TUNEL) и PCNA. В работе были представлены изображения, где в группе введения ВВ-МСК количество TUNEL-положительных клеток было меньше, а PCNA-положительных клеток – больше по сравнению с группой без их применения, что свидетельствует о более интенсивной пролиферации и менее выраженном процессе апоптоза. Результаты в изменении функционального статуса почек при применении ВВ-МСК в условиях ОПП вполне согласуются с таковыми в предыдущем исследовании. На пятый день после введения цисплатина креатинин и мочевины при введении ВВ-МСК были значительно ниже, чем в группе без их применения ( $p < 0,001$ ).

В данной работе приводились изображения результатов ИФА, где демонстрировалось, что апоптоз в клеточной культуре NRK-52E с ВВ-МСК был менее выражен по сравнению с остальными группами. Методом вестерн-блоттинга определяли возможные механизмы антиапоптозного действия ВВ-МСК. Согласно результатам, при цисплатин-индуцированном окислительном стрессе в клетках происходит активация сигнального пути p38 MAPK, при этом наблюдалось его подав-

ление при инкубации КК совместно с ВВ-МСК (снижение экспрессии p-p38 MAPK и каспазы 3). Методом вестерн-блоттинга удалось также выявить повышенную экспрессию p-ERK, коррелирующую с уровнем PCNA в группе клеток с ВВ-МСК, по сравнению с группой без их применения. После культивирования клеточной культуры с ВВ-МСК совместно с ингибитором ERK в течение 24 часов, экспрессия p-ERK и впоследствии PCNA подавлялась. Данные результаты свидетельствуют о том, что путь ERK играет значимую роль в увеличении выживаемости клеток при применении ВВ-МСК [24].

Таким образом, в настоящей работе, как *in vitro*, так и *in vivo*, ВВ-МСК способствовали подавлению окислительного стресса, являющегося основным звеном патогенеза цисплатин-индуцированного ОПП и приводящего к перекисному окислению липидов, повреждению ДНК посредством образования 8-ОН-дезоксигуанозина. Концентрация последнего, также как и МДА, была значительно ниже, а глутатиона, являющегося антиоксидантом – выше при введении ВВ-МСК по сравнению с группами без их применения. В данной работе отмечают влияние ВВ-МСК на функциональный и морфологический статус почек *in vivo*, что согласуется с предыдущим описанным исследованием. На повышение резистентности к апоптозу эпителия почечных канальцев в условиях повреждения при введении ВВ-МСК указывают как снижение количества TUNEL-положительных клеток по сравнению с другими группами при ИГХ, так и результаты ИФА в КК. На активацию пролиферации в группе ВВ-МСК указывало повышение PCNA-положительных клеток по результатам ИГХ. Кроме того, в данной работе выявили возможные механизмы, регулирующие апоптоз и пролиферацию при применении ВВ-МСК. По результатам вестерн-блота, ВВ-МСК могут способствовать пролиферации поврежденных клеток путем активации сигнального пути ERK и тормозить апоптоз через ингибирование p38 MAPK.

Информация о вышеописанной антиоксидантной активности ВВ-МСК в условиях ОПП имеется в доклиническом исследовании G. Zhang [26]. В данной работе также изучались возможные ее механизмы. ВВ были выделены из человеческих мезенхимных стволовых клеток пуповины методом ультрацентрифугирования. Изменения в почках при введении ВВ-МСК изучали на модели ОПП ишемия-реперфузия у крыс-самцов возрастом 8 нед. В каждой группе было по 6 животных. Крысам была выполнена нефрэктомия справа. Для индукции ишемии левой почки на почечную артерию накладывали сосудистый зажим на 45 мин. После этого в хвостовую вену однократно вводили 100 мкг ВВ-МСК в 1 мл среды или 1 мл среды без ВВ. Животных выводили из эксперимента через 24 часа после вмешательства. Результаты гистологического

исследования ткани почек согласуются с предыдущими работами. В группе введения ВВ-МСК выраженность изменений, обусловленных канальцевым некрозом, оказалась меньшей по сравнению с группой введения среды ( $p < 0,05$ ). При оценке функционального состояния почек, помимо креатинина и мочевины, определяли уровень липокалина, ассоциированного с желатиназой нейтрофильных клеток (NGAL), который считается ранним биомаркером ОПП. Концентрация последнего в сыворотке крови оказалась 55 нг/мл при введении ВВ-МСК, когда без их применения – 70 нг/мл. Результаты оценки антиоксидантной активности в ткани почек согласуются с предыдущим исследованием, уровни 8-OHdG и МДА при применении ВВ-МСК оказались значимо меньше по сравнению с группой введения среды ( $p < 0,05$ ). Тогда как концентрация супероксиддисмутазы (СОД) при применении ВВ-МСК оказалась выше, чем в группе без их применения, данный показатель в первом случае был 50 Е/мг, а во втором – 25 ( $p < 0,05$ ). По результатам вестерн-блота выявлено повышение экспрессии транскрипционного фактора NRF2 и фермента гемоксигеназы-1 (ГО-1) в цитоплазматических и ядерных белках, экстрагированных из ткани почек в группе ВВ-МСК [26].

В данной работе получены результаты, вполне согласующиеся с предыдущими исследованиями относительно морфологических, функциональных характеристик, а также антиоксидантной активности. Помимо этого выявили возможные механизмы ВВ-МСК, опосредующие защиту от окислительного стресса, которые связаны с активацией транскрипционного фактора NRF2, отвечающего за активность антиоксидантных ферментов СОД и ГО-1.

Таким образом, регенеративная способность ВВ-МСК демонстрируется на различных моделях ОПП, где результаты морфологических и функциональных параметров согласуются между собой. Внеклеточные везикулы, выделенные из мезенхимных стволовых клеток различного происхождения, направлены на множество патогенетических аспектов ОПП: индуцируют тубулоэпителиальную регенерацию, подавляют апоптоз, окислительный стресс и воспаление.

В патогенезе хронической болезни почек (ХБП) любой этиологии основную роль отводят прогрессирующему фиброзу почек. Следовательно, при данном патологическом состоянии важно оценить выраженность антифиброзного действия ВВ-МСК и возможные механизмы, через которые оно осуществляется [27].

В исследовании С. Grange и соавт. выраженность антифиброзного действия ВВ-МСК рассматривали на модели диабетической нефропатии [9]. ВВ выделялись из костномозговых МСК человека путем микрофилт-

рации и ультрацентрифугирования. Объектом исследования стали самцы мышей NSG возрастом 8 недель, в каждой рассматриваемой группе было по 8 особей. Животным внутривенно вводили 37 мг/кг стрептозоцина в течение 4 дней подряд. Стойкая гипергликемия ( $355 \pm 85$  мг/дл) развивалась на 10-ый день после первой инъекции. С целью идентификации диабетической нефропатии определяли степень альбуминурии (альбумин-креатининовое соотношение), а также концентрацию креатинина и мочевины крови через 28 дней после установленной гипергликемии. Данные показатели были значительно повышены по сравнению с группой контроля ( $p < 0,001$ ). Так, например, альбумин-креатининовое соотношение составило 185 мкг/мг, тогда как в группе интактных животных – 15. Через 1 месяц после установленной гипергликемии животным начали внутривенно вводить  $1 \times 10^{10}$  ВВ-МСК 1 раз в неделю в течение 4 недель (5 инъекций) или физиологический р-р. Мышей выводили из эксперимента через 28 (до введения ВВ) или 60 дней после установленной гипергликемии. При введении ВВ-МСК альбумин-креатининовое соотношение составило 100 мкг/мг, а в группе без их применения – 150 через 60 дней после установленной гипергликемии. Это говорит об улучшении функционального состояния почек на фоне введения ВВ-МСК. Морфологическая картина ткани почек оценивалась с помощью окрашивания трихромом, при диабетической нефропатии отмечался гломерулярный и интерстициальный фиброз, составляющий в среднем 20% и 10% соответственно, тогда как в группе ВВ-МСК отмечалось снижение отложения коллагена в клубочках и интерстиции, выраженность фиброза составила всего 5 и 2 ( $p < 0,001$ ) [9].

На основании представленных результатов можно полагать, что введение ВВ-МСК способствует улучшению функции почек на фоне уже сформированной ХБП. А по данным гистологического исследования, применение ВВ-МСК привело к снижению фиброза в клубочках и интерстиции.

В работе J. He и соавт. рассматривали действие ВВ-МСК, где хроническая болезнь почек моделировалась хирургическим способом [28]. ВВ выделялись из МСК костного мозга мышей методом ультрацентрифугирования. В экспериментальной работе всего было задействовано 32 лабораторные мыши C57BL6/J в возрасте 6 недель. Животным выполнялась резекция верхнего и нижнего полюса левой почки (5/6), затем через неделю – нефрэктомия справа. Одной группе на второй день после операции вводили  $1 \times 10^6$  МСК в хвостовую вену, другой – ВВ-МСК на 2, 3, 5 день после операции в разовой дозе 30 мкг, третья группа после операции экспериментального лечения не получала. Мышей выводили из эксперимента через 7 дней после хирургического вмешательства. На 7-ой день после

хирургического вмешательства у мышей уровень креатинина, мочевины сыворотки крови, а также степень протеинурии были значительно выше по сравнению с контролем. Так, в контрольной группе креатинин сыворотки крови составлял 55 мкмоль/л, белок мочи – 0,4 г/л, а у мышей после операции данные показатели были 92,5 и 2,7 соответственно. При введении же ВВ-МСК наблюдалось снижение уровней лабораторных маркеров ХБП, креатинин составлял 65,3 мкмоль/л, степень протеинурии 0,5 г/л ( $p < 0,05$ ). В группе применения МСК значимых различий с ВВ-МСК не было. В исследовании приводят изображения результатов гистологического исследования (окраска трихромом) без количественной оценки, которые демонстрируют менее интенсивную концентрацию коллагена при применении ВВ-МСК и МСК в сравнении с группой без экспериментального лечения [28].

Полученные результаты вполне согласуются с предыдущей работой, где показано, что введение ВВ-МСК способствует снижению выраженности фиброза в почках, а также повышению качества функциональных показателей. Стоит отметить, в данной работе присутствовала группа с однократным введением МСК в количестве  $1 \times 10^6$ , где результаты оказались сопоставимыми с трехкратным введением ВВ-МСК в дозировке дозе 30 мкг.

В работе S. Kholia рассматривают действие ВВ-МСК на модели хронической болезни почек, вызванной лекарственной токсичностью [29]. ВВ выделялись из костномозговых МСК человека методом ультрацентрифугирования и микрофльтрации. В эксперимент включено 14 лабораторных самцов-мышей возрастом 6-8 недель. Животным внутривентриально вводили Аристолохиевую кислоту в дозировке 4 мг/кг один раз в неделю в течение 4 недель (4 инъекции). При этом, через 3 дня после каждой инъекции внутривенно вводили  $1 \times 10^{10}$  ВВ-МСК или фосфатно-солевой буфер. Мышей выводили из эксперимента через 30 дней после первой инъекции Аристолохиевой кислоты. При окрашивании трихромом срезов ткани почек интерстициальный фиброз был более выражен в группе без применения ВВ-МСК ( $p < 0,001$  по сравнению с контролем), чем при применении ВВ-МСК, однако в данной группе его степень также имела достоверные различия сопоставимо с контролем ( $p < 0,01$ ) [29].

Почечный фиброз преимущественно связан с трансформацией интерстициальных фибробластов в коллаген-синтезирующие миофибробласты, но последние могут образовываться также из канальцевого эпителия и эндотелия посредством эпителиально-мезенхимного перехода (ЭМП) [30]. В описываемой работе его выраженность оценивали с помощью ИГХ путем определения маркеров активированных миофибробластов: количество клеток, положительных по фибро-

бласт-специфическому белку-1 (FSP-1) и альфа-гладкомышечному актину ( $\alpha$ -SMA) при применении ВВ-МСК оказалось ниже по сравнению с группой без их введения ( $p < 0,001$ ). На основании данных результатов можно предположить, что введение ВВ-МСК подавляет ЭМП в почках.

Учитывая наличие противоигозного действия ВВ-МСК на различных моделях ХБП, установленного морфометрически, важно понимать, какие биологические пути регулируются в результате их введения. Центральным фактором, лежащим в основе развития почечного фиброза, является вышеупомянутый ЭМП. Этот процесс происходит при участии трансформирующего фактора роста бета (TGF- $\beta$ ), который, образуя комплекс с белками Smad, активирует транскрипционный фактор Snail. Последний, в свою очередь модулирует тубулоинтерстициальный фиброз путем подавления экспрессии E-кадгерина и индуцирования экспрессии  $\alpha$ -SMA, фибронектина и коллагена I (Col I) в миофибробластах [31, 32].

В работе S. Kholia и соавт. полагают, что противоигозное действие ВВ-МСК опосредовано регуляцией генов, участвующих в процессе ЭМП [29]. Для того, чтобы это обосновать, в ткани почек определили уровни экспрессии генов Col I, TGF- $\beta$ -1 и  $\alpha$ -SMA, и выявили их снижение при введении ВВ-МСК. Данные согласуются с исследованием C. Grange и соавт., где при количественном ПЦР (полимеразная цепная реакция) -анализе выявлена уменьшенная экспрессия не только вышеуказанных генов, но и транскрипционного фактора SNAI1, а также Serpina1a, лиганд FAS, TIMP1, MMP3 [9]. Более того, в данной работе в результате биоинформатического анализа выявили микроРНК, специфичные для ВВ-МСК, направленные на регуляцию сигнальных путей, отвечающих за ЭМП: микроРНК-29a, семейства let-7, микроРНК-30a, микроРНК-24 и микроРНК-21.

Есть сведения о способности ВВ-МСК влиять на экспрессию E-кадгерина в эпителии почечных канальцев [33]. ВВ выделялись из костномозговых МСК мышей методом ультрацентрифугирования. Для индукции фиброза в культуру клеток линии проксимального канальцевого эпителия человека HK2 добавляли рекомбинантный человеческий TGF- $\beta$ 1 6 нг/мл. Клеточные культуры были разделены на 4 группы: контроля, TGF- $\beta$ 1 (6 нг/мл), TGF- $\beta$  + МСК ( $1 \times 10^5$ ), TGF- $\beta$ 1 + ВВ-МСК (30 мкг/мл), и культивировались в течение 48 или 72 ч. В результатах исследования приводят микрофотографии, где в контрольной группе клетки имели характерную морфологию и хорошо выраженные межклеточные контакты. После инкубации в течение 72 часов с рекомбинантным TGF- $\beta$ 1 6 нг/мл, межклеточные контакты ослабевали, и клетки приобретали другую морфологию, принимая более вытянутую форму. При этом, в группах с применением МСК

или ВВ-МСК данные изменения не были столь выражены. Таким образом, по данным морфологического исследования, становится понятным, что добавление в КК проксимального канальцевого эпителия МСК или ВВ-МСК способствовало сохранению нормальной морфологии клеток в условиях воздействия TGF- $\beta$ 1, тогда как в группе без совместного культивирования с МСК или ВВ-МСК клетки претерпевали изменения, характерные для ЭМП. Согласно результатам вестерн-блота, при добавлении TGF- $\beta$ 1 в КК экспрессия  $\alpha$ -SMA через 48 и 72 часа увеличивалась в 3,5 раза по сравнению с контролем, тогда как при применении МСК или ВВ-МСК ее уровень был сопоставим с контролем. Добавление TGF- $\beta$ 1 в КК способствовало подавлению экспрессии Е-кадгерина в 3 раза по сравнению с контролем. А в КК с МСК или ВВ-МСК экспрессия Е-кадгерина повышалась в 2 раза по сравнению группой без их добавления.

Таким образом, в данном исследовании показано, что применение ВВ-МСК способствует ингибированию процесса эпителиально-мезенхимального перехода. Известно, что ЭМП характеризуется подавлением экспрессии Е-кадгерина и повышением  $\alpha$ -SMA. В описанной работе показано, что добавление к клеточной культуре МСК или ВВ-МСК регулировало экспрессию вышеуказанных белков. Так, уровень экспрессии Е-кадгерина был повышен, а  $\alpha$ -SMA – снижен в группе применения МСК или ВВ-МСК относительно группы индукции фиброза без добавления МСК или ВВ-МСК. Данные результаты позволяют резюмировать о том, что ВВ-МСК могут ингибировать ЭМП путем регуляции экспрессии Е-кадгерина и  $\alpha$ -SMA.

Анализируя представленные работы, можно заключить о том, что ВВ-МСК обладают большим потенциалом в терапии ХБП. С учетом того, что центральным звеном патогенеза в данном заболевании является фиброз, в вышеуказанных исследованиях оценивали действие ВВ-МСК, направленное на его подавление. По представленным результатам морфологических исследований, ВВ-МСК способны ингибировать фиброз на различных моделях ХБП. Выявлены механизмы, опосредующие данное действие: подавление ЭМП через регуляцию экспрессии транскрипционного фактора SNAI1, а также TGF- $\beta$ -1,  $\alpha$ -SMA, Col I, Е-кадгерина, Serpina1a, лиганда FAS, TIMP1, MMP3. Более того, в работе С. Grange и соавт. выявлены микро-РНК, специфичные для ВВ-МСК, направленные на регуляцию сигнальных путей, отвечающих за ЭМП: микроРНК-29a, семейства let-7, микроРНК-30a, микроРНК-24 и микроРНК-21. Таким образом, ВВ-МСК способны действовать на многочисленные звенья патогенеза хронической болезни почек, регулируя процесс фиброза.

### *Внеклеточные везикулы из мезенхимных стволовых при стриктурах уретры и мочеочника*

Стриктуры в урологии, являясь заболеваниями, ассоциированными с фиброзом, требуют новых подходов к лечению, так как хирургическое лечение не всегда приносит удовлетворительные результаты [34]. Так, ВВ-МСК, учитывая их вышеописанное антифиброзное действие, для некоторых исследователей могут стать потенциальным терапевтическим инструментом. При поиске в медицинских базах данных Pubmed, Scolar по применению ВВ-МСК на модели стриктур, найдено 2 доклинических исследования.

В экспериментальной работе Z. Shi и соавт. показано местное действие ВВ-МСК на тканях уретры в рамках модели стриктуры у крыс [35]. ВВ выделялись из костномозговых МСК крыс методом ультрацентрифугирования и микрофльтрации. Животные (45 крыс-самцов Sprague-Dawley) были разделены на 3 группы: контрольная, стриктура, стриктура с последующим введением ВВ-МСК. Всем животным вводился уретральный катетер, затем выполнялся вентральный доступ к уретре. Крысам второй и третьей групп в стенку уретры вводили 1 мкг человеческого рекомбинантного TGF- $\beta$ 1, затем наносили травму уретры через все слои в четырех местах иглой 23G, после чего уретральный катетер удаляли, рану ушивали. На следующий день крысам третьей группы в стенку уретры вводили ВВ-МСК (200 мкг в 100 мкл физиологического раствора). Через 28 дней после вмешательства проводилось микроультразвуковое исследование уретры, по результатам которого была выявлена стриктура у крыс во второй группе, тогда как в третьей патологические изменения практически отсутствовали. С помощью трихромного окрашивания по Массону поперечных срезов уретры и периуретральных тканей оценивалась степень фиброза, которая оказалась значительно ниже у крыс в третьей группе и составила 1,5 балла, тогда как во второй – 2,5 балла ( $p < 0,05$ ). Методом ПЦР в тканях уретры оценивали уровни экспрессии мРНК Col I, Col III, фибронектина и эластина, ассоциированных с фиброзом, а также фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и фактора роста фибробластов (bFGF), ассоциированных с ангиогенезом. В группе с применением ВВ-МСК отмечалось значительное снижение экспрессии маркеров, ассоциированных с фиброзом ( $p < 0,05$  по сравнению со второй группой). В то же время экспрессия eNOS и bFGF в группе применения ВВ-МСК была повышена ( $p < 0,05$  по сравнению со второй группой) [35].

В вышеописанной работе с помощью результатов инструментальных и морфологических исследований продемонстрировали целесообразность местного применения ВВ-МСК на модели стриктуры уретры у

крыс. Согласно полученным результатам молекулярно-генетического исследования, снижение фиброза было связано с ингибированием избыточного накопления продуктов внеклеточного матрикса, однако стоявшие за этим сигнальные пути в данной работе не изучали.

В доклиническом исследовании J. Luo и соавт. сопоставили вклад МСК и ВВ-МСК в снижении фиброза на модели стриктуры мочеоточника [36]. ВВ выделялись из крысиных костномозговых МСК (ExoQuick™). В эксперимент включили 32 самки-крысы Sprague Dawley возрастом 12 недель. Стриктуру мочеоточника моделировали путем наложения на проксимальный отдел мочеоточника сосудистого зажима на 6 часов. ВВ-МСК или МСК вводились после его снятия в почечную артерию в количестве 25 мкг или 3,5 млн клеток соответственно. Для оценки уродинамической значимости стриктуры оценивали степень гидронефроза методом магнитно-резонансной томографии (МРТ). Через 4 недели после хирургического вмешательства в группах МСК и ВВ-МСК объем почечной лоханки (мм<sup>3</sup>) составлял 454,0±145,7 и 414,45±139,98 соответственно, тогда как в группе без лечения он был значительно больше – 1330,47±427,77 ( $p<0,01$ ). В результате гистологического исследования срезов мочеоточника был выявлен тяжелый стеноз у крыс со стриктурой без экспериментального лечения, диаметр просвета составлял 20 мкм (при значении 150 мкм у крыс контрольной группы). В то время как в группах МСК и ВВ-МСК патологические изменения были менее выражены: 70 и 80 мкм соответственно ( $p<0,01$ ). По данным ИГХ срезов мочеоточника у животных со стриктурой определялись повышенные уровни экспрессии Col I и TGF-β1 по сравнению с контрольной группой, показатель иммунореактивности в среднем составил 8 и 9,5 баллов соответственно, когда как в контроле – 2,5 и 3 балла. У животных, получавших ВВ-МСК, отмечено значительное снижение экспрессии данных маркеров по сравнению с животными группы стриктур – по 5 баллов для обоих показателей ( $p<0,05$  для всех). Важно отметить, что уровни экспрессии Col I и TGF-β1 существенно не различались между группами МСК и ВВ-МСК ( $p=1,000$ ,  $p=1,000$ ). По результатам ПЦР и вестерн-блота, в группе стриктур наблюдались более высокие уровни экспрессии p-Smad3, коллагена I, фибронектина, TGF-β, чем у животных, получавших МСК и ВВ-МСК ( $p<0,05$ , для всех) [36].

В данной работе было показано, что однократное введение ВВ-МСК/МСК в почечную артерию способствовало снижению фиброзного процесса в мочеоточнике на модели ишемической стриктуры. В дозировках 25 мкг ВВ-МСК и 3,5 млн МСК их действие оказалось сопоставимым. В группах ВВ-МСК/МСК диаметр просвета мочеоточника по данным морфометрии был в 4 раза больше, чем без их применения. О лучшей проходимости мочеоточника можно косвенно судить и по

данным МРТ почек, где степень гидронефроза оказалась менее значимой при применении ВВ-МСК/МСК. Антифиброзное действие последних связывают с ингибированием избыточного накопления продуктов внеклеточного матрикса, что может осуществляться за счет подавления сигнального пути TGF-β1/Smad, о чем свидетельствуют результаты молекулярно-генетических исследований.

Таким образом, ВВ-МСК успешно реализуют свое противофиброзное действие на моделях повреждения мочеоточника и уретры.

### *Внеклеточные везикулы из мезенхимных стволовых при стрессовом недержании мочи*

При поиске в медицинских базах данных Pubmed, Scholar по применению секрета и ВВ-МСК на модели стрессового недержания мочи (СНМ) найдено 3 публикации.

В работе С. Dissarapan и соавт. показано влияние кондиционированной среды МСК (КС-МСК) на континенцию на модели родовой травмы у крыс [37]. КС-МСК выделяли из МСК КМ крыс путем центрифугирования и фильтрации. В эксперимент были включены самки крыс Sprague–Dawley массой 225-250 г. Для создания модели родовой травмы выполняли дистензию влагалища путем последовательного введения увеличивающихся по размеру уретральных бужей. Затем во влагалище вводился катетер Фолея Ch 10 с раздуванием баллона до 3 мл на 4 часа. В первой серии эксперимента рассматривали влияние внутривенного введения МСК на функцию континенции после родовой травмы, а во второй – периуретрального введения секрета МСК. Крыс разделили на 3 группы (по 11 и 10 животных соответственно): первая – внутривенная инъекция МСК через 1 ч после травмы/периуретральное введение 300 мкл КС-МСК, вторая – группа травмы, третья – интактные животные. Через 1 неделю после травмы животным выполняли цистометрию наполнения с оценкой давления потери мочи (LPP – Leak Point Pressure), которое составило в группе травмы 20 см вод. ст., что значительно меньше, чем в контрольной группе (50 см вод. ст.,  $p<0,05$ ). При этом, в группе с применением МСК или КС-МСК LPP составляло 40 см вод. ст. и от группы контроля значимо не отличалось. Таким образом, МСК или КС-МСК способствовали повышению LPP через 1 неделю после влагалищной дистензии [37].

В настоящем исследовании показано частичное восстановление функции континенции как при внутривенной инъекции МСК, так и при периуретральном введении КС-МСК через 1 неделю после травмы.

В последующем, та же группа авторов рассматривала действие МСК и КС-МСК при системном введении на модели комбинированного повреждения влагалища и срамного нерва [38]. Выполнялось 2 серии

эксперимента: в первой (44 животных) – рассматривали влияние внутривенного введения МСК на функцию континенции после травмы, во второй (54 животных) – внутрибрюшинного введения КС-МСК. Крыс Sprague-Dawley (самки) разделяли на 3 группы: интактные, группа травмы, введение МСК в дозе  $2 \times 10^6$  в 1 мл физ. раствора/ внутрибрюшинное введение КС-МСК через 1 час после травмы. Влагалищную дилатацию проводили как описано ранее. Срамной нерв выделяли билатерально и пережимали дважды в течение 30 секунд. По данным цистометрии, выполненной через 3 недели после комбинированной травмы, внутрипузырное давление потери мочи значительно снижалось по сравнению с животными в группе контроля ( $p < 0,05$ ), как это было описано ранее. У крыс, получавших МСК или КС-МСК, данный показатель был сопоставим с интактными животными, что свидетельствует об улучшении функции континенции. Однако при электромиографии наружного сфинктера уретры между сравниваемыми группами не было выявлено значимых различий в частоте и амплитуде импульсов. При оценке функции пудендального нерва, амплитуда и скорость возбуждения его сенсорной ветви были значительно снижены через 3 недели после травмы по сравнению с контрольными животными ( $p < 0,05$ ). Так, данные показатели составили 5,5 мкВ и 100 Нз в контроле, а после травмы – 1,5 и 50 соответственно. У крыс, получавших КС-МСК, амплитуда и скорость возбуждения были сопоставимы с группой контроля: 2,5 мкВ и 75 Нз. Данные показатели в группе МСК значимо не отличались от группы КС-МСК. Результаты флуоресцентной микроскопии поперечных срезов уретры с окраской по Ван-Гизону, представленные в виде микрофотографий, демонстрировали более выраженный слой поперечно-полосатых мышечных волокон у животных, получавших МСК или КС-МСК, по сравнению с группой травмы. Также у крыс, получающих экспериментальное лечение, повысилась плотность эластиновых волокон и оказалась сопоставимой с группой контроля. По результатам ИФА поперечных срезов срамного нерва, пучки сенсорных ветвей в группе контроля были круглыми и имели небольшие компактные аксоны. Через три недели после травмы пучки нерва стали менее плотными, а аксоны – неправильной формы. У животных, получавших МСК или КС-МСК пучков сенсорных ветвей срамного нерва с нормальной морфологией было больше, чем в группе травмы. При оценке нервно-мышечных соединений наружного сфинктера уретры (ИФА), у животных, перенесших травму, иннервирующие аксоны были тоньше, а нервно-мышечные соединения были менее организованными, чем у интактных животных, а также диффузно окрашивались по краю поперечно-полосатых мышечных волокон, что свидетельствует о денервации. У крыс, получавших МСК или КС-МСК,

аксоны, иннервирующие наружный сфинктер уретры, имели более извилистый ход и многочисленные коллатерали. Степень окрашивания нервно-мышечного соединения вдоль волокон поперечно-полосатой мускулатуры была менее выражена, чем в группе травмы, что свидетельствует о том, что МСК и КС-МСК способствовали нейромышечной регенерации [38].

В данной работе исследователи заключают, что системное введение МСК или КС-МСК способствует восстановлению функции континенции на модели родовой травмы у крыс. В настоящем исследовании рабочая группа разработала новый комбинированный механизм повреждения: компрессия пудендального нерва и дистензия влагалища, что может более точно характеризовать травму, происходящую при родах. По данным цистометрии, через 3 недели после повреждения функция континенции восстановилась как при внутривенном введении МСК, так и при внутрибрюшинной инъекции КС-МСК, в отличие от группы травмы. По данным морфометрии, МСК/КС-МСК способствовали повышению эластиновых волокон, незначительному повышению поперечно-полосатых мышечных волокон в тканях уретры. Тем не менее, частота и амплитуда импульсов наружного сфинктера уретры при электромиографии не изменялась. При применении МСК или КС-МСК амплитуда и скорость возбуждения сенсорной ветви пудендального нерва была значительно выше, чем в группе травмы. Данные функциональные изменения согласуются с вышеописанной морфологической картиной, где была выявлена большая сохранность нервных структур. Таким образом, действие секрета или клеток было направлено на эластогенез, а также нервно-мышечную регенерацию.

J. Ni и соавт. показали терапевтический потенциал местного введения МСК и ВВ-МСК на модели комбинированного повреждения влагалища и срамного нерва у крыс [39]. Внеклеточные везикулы выделяли из МСК жировой ткани человека методом ультрафильтрации (0,22 мкм, Millipore) и ультрацентрифугирования. В эксперимент было включено 48 половозрелых самок крыс Sprague-Dawley. Животные были разделены на 4 группы: контроль, группа травмы без или с введением МСК/ВВ-МСК. В данной работе дистензию влагалища выполняли, как описано ранее, а повреждение пудендального нерва производилось путем его билатерального пересечения. Через 1 час после хирургического вмешательства соответствующим группам выделяли среднюю часть уретры и периуретрально вводили МСК в дозировке  $2 \times 10^6$  в 50 мкл физ. р-ра или 50 мкг ВВ-МСК в 50 мкл физ. р-ра. Четырём крысам каждой группы через 2, 4 и 8 недель после травмы проводили цистометрию наполнения, а затем выводили из эксперимента. При окраске трихромом количественно оценивали выра-

женность поперечно-полосатой мускулатуры наружного сфинктера уретры, у интактных крыс данный показатель составил  $0,304 \pm 0,009$ , тогда как у животных после травмы наблюдалась выраженная атрофия поперечно-полосатых мышечных волокон, их доля составила  $0,151 \pm 0,01$  через 2 недели,  $0,155 \pm 0,008$  – через 4 недели и  $0,157 \pm 0,006$  – через 8 недель. В группах с введением МСК/ВВ-МСК выраженность поперечно-полосатой мускулатуры нарастала в динамике, в каждую точку наблюдений данный показатель достоверно был больше, чем у животных без применения МСК/ ВВ-МСК ( $p < 0,05$ ). Так, у животных с введением ВВ-МСК выраженность поперечно-полосатой мускулатуры составляла  $0,181 \pm 0,009$  через 2 недели,  $0,225 \pm 0,012$  – через 4 недели и  $0,261 \pm 0,01$  – через 8 недель. Окрашивая гематоксилином-эозином поперечные срезы средней трети уретры оценивали инфильтрацию клетками воспаления через 8 недель после инъекции МСК/ВВ-МСК. Различий в количестве последних по сравнению с контрольной группой выявлено не было. При ИФА поперечных срезов уретры оценивали выраженность нервных волокон. В группе травмы их количество через 8 недель было значительно меньше чем у контроля ( $p < 0,01$ ), тогда как при применении МСК/ВВ-МСК было сопоставимо с контролем. Функциональные изменения закономерно соответствовали морфологическим. В группе травмы физиологическая емкость мочевого пузыря и давление потери мочи LPP через 8 недель составляли  $0,27 \pm 0,026$  мл и  $25,25 \pm 2,5$  см вод. ст. соответственно, что значительно ниже, чем было у интактных животных ( $0,535 \pm 0,044$  мл и  $47,5 \pm 2,65$  см вод. ст.). При этом, в группе введения ВВ-МСК через 8 недель емкость мочевого пузыря и LPP составили  $0,478 \pm 0,054$  мл и  $42,8 \pm 2,22$  см вод. ст. соответственно, что значительно выше, чем в группе травмы ( $p < 0,05$ ). Функциональные характеристики при введении ВВ-МСК постепенно увеличивались через 2, 4 и 8 недель после травмы, в то время как в группе травмы динамики не наблюдалось. Соответственно, в каждую точку наблюдений значения емкости мочевого пузыря и LPP в группах ВВ-МСК/МСК достоверно отличались от группы без их введения ( $p < 0,05$ ). Важно отметить, статистически значимой разницы в результатах как морфологических, так и функциональных тестов между группами применения МСК и ВВ-МСК выявлено не было [39].

В данной работе изучили влияние местного введения ВВ-МСК или МСК на функцию континенции на модели комбинированного повреждения влагиалища и пудендального нерва у крыс. Результаты гистологического исследования выявили увеличение выраженности поперечно-полосатой мускулатуры наружного сфинктера уретры у животных при введении МСК/ВВ-МСК по сравнению группой травмы. Здесь важно отметить, что, в отличие от предыдущих работ,

выраженность поперечно-полосатой мускулатуры оценивали количественно, и в каждую точку наблюдений данный показатель нарастал в динамике и был достоверно больше, чем у животных без применения МСК/ВВ-МСК ( $p < 0,05$ ). Кроме того, выраженность периферических нервных волокон, по данным иммунофлюоресцентного исследования, через 8 недель после травмы в группах МСК/ВВ-МСК была сопоставима с интактными животными. По результатам цистометрии было выявлено, что при введении МСК/ ВВ-МСК физиологическая емкость мочевого пузыря и LPP были значительно выше, чем в группе травмы. Данные показатели увеличивались в динамике (через 2, 4 и 8 недель), тогда как в группе травмы емкость мочевого пузыря и давление потери мочи значительно не изменялись. Также важным наблюдением было отсутствие инфильтрации клетками воспаления через 8 недель в месте инъекции МСК/ВВ-МСК. Таким образом, МСК/ВВ-МСК не вызывали иммунного ответа в тканях. Хотелось бы отметить, что в настоящей работе длительный период наблюдений позволил более детально отследить характер морфологических и функциональных изменений. А введение МСК и ВВ-МСК одним способом позволило в полной мере сопоставить их эффект на восстановление после травмы.

Резюмируя, местное введение ВВ-МСК или МСК способствовало улучшению функции континенции и восстановлению физиологической емкости мочевого пузыря, что могло быть связано с регенерацией тканей после травмы.

#### **Внеклеточные везикулы из мезенхимных стволовых при уротелиальной дисфункции**

При поиске в медицинских базах данных Pubmed, Scholar по применению секрета и ВВ-МСК при повреждении слизистой оболочки мочевого пузыря (МП) различной этиологии найдено 2 публикации.

В работе С. Helissey оценивали терапевтический потенциал ВВ-МСК или КС-МСК на модели лучевого цистита *in vitro* [40]. КС и ВВ выделялись из КМ-МСК человека. Из собственной пластинки слизистой оболочки мочевого пузыря человека были выделены фибробласты и культивированы. Было сформировано три группы: первая инкубировалась в среде для фибробластов (2 мл), вторая – в среде для фибробластов (2 мл), содержащей  $1,45 \times 10^8$  ВВ-МСК/мл, третья – в среде для фибробластов (2 мл), содержащей  $0,25 \times 10^8$  КС-МСК/мл. Через 72 часа фибробласты были облучены ( $3 \times 3,5$  Гр с интервалом в 24 часа). При инкубации в среде, содержащей ВВ-МСК или КС-МСК, наблюдалось подавление экспрессии генов  $\alpha$ -SMA, CTGF, Col1a2 (метод ПЦР). Так, уровень экспрессии  $\alpha$ -SMA в группе ВВ-МСК был 3,85, при применении КС-МСК – 5,86, тогда как в группе облученных – 7,13. Таким

образом, экспрессия данного маркера при добавлении ВВ-МСК оказалась в 2 раза ниже чем в группе облученных фибробластов ( $p=0,0041$ ). Уровень экспрессии STGF при применении ВВ-МСК и КС-МСК был снижен по сравнению с группой облученных фибробластов в 4 и 15 раз ( $p<0,001$ ), а  $Col1\alpha2$  – в 1,4 и 2,7 соответственно ( $p<0,001$ ). Кроме того, при оценке цитокинового профиля облученных фибробластов, в группах ВВ-МСК и КС-МСК было выявлено повышение уровня  $IFN\gamma$ ,  $IL10$  и  $IL27$  по сравнению с группой культивирования в стандартной среде [40].

В данной работе продемонстрировано снижение экспрессии генов, ассоциированных с фиброзом в фибробластах мочевого пузыря после облучения при предварительной инкубации в среде для фибробластов, содержащей ВВ-МСК или КС-МСК. Кроме того, при оценке цитокинового профиля выявлено повышение уровня цитокинов, обладающих противовоспалительным и противифиброзным действием. На основании результатов можно заключить, что ВВ-МСК/КС-МСК обладают потенциалом для реализации вышеуказанных эффектов в ткани мочевого пузыря.

Х. Qiu и соавт. изучали влияние КС-МСК на протекцию мочевого пузыря на модели лучевого цистита *in vivo* [41]. Кондиционированную среду выделяли из МСК жировой ткани крыс. В эксперимент было включено 62 самки крыс Sprague-Dawley возрастом 10 недель. На область мочевого пузыря воздействовали рентгеновским излучением в дозе 20 Гр (Siemens, рентгеновское излучение 6 МВ, 2 Гр / мин). Затем крыс разделили на 3 группы: радиационного контроля, животных, получающих МСК или КС-МСК. Для имплантации клеток или кондиционированной среды производили нижний срединный доступ к мочевому пузырю, и иглой 25 G равномерно инъецировали в его мышечный слой 800 мкл бессывороточной среды DMED, содержащей  $1 \times 10^6$  МСК или 800 мкл концентрированной кондиционированной среды МСК. Данное вмешательство осуществлялось через 24 часа после облучения. Выведения животных производились через 1, 4, 8 и 12 недель после инъекции МСК/КС-МСК с последующим морфологическим и молекулярно-генетическим исследованием тканей МП. При наблюдении за животными оценивали частоту и объем мочеиспусканий. В группе лучевого цистита наблюдалась значительная дисфункция мочевого пузыря, тогда как при введении МСК/КС-МСК отмечалось увеличение объема мочеиспускания и снижения частоты относительно группы лучевого цистита ( $p<0,05$ ). Морфологические результаты показали, что количество кровеносных сосудов в подслизистой оболочке МП было увеличено в группах применения МСК/КС-МСК. Так, при введении КС-МСК количество сосудов в поле зрения составило 30, что было сопоставимо с группой МСК, в то время как в

группе лучевого цистита – 20 ( $p<0,05$ ). Введение МСК/КС-МСК повлияло и на мышечно-коллагеновое соотношение в ткани мочевого пузыря. Оно оказалось выше в группе КС-МСК (сопоставимо с группой МСК) и составило 1,0, когда в группе лучевого цистита – 0,75 ( $p<0,05$ ). Инъекции МСК/КС-МСК оказали влияние на уровни цитокинов  $TNF-\alpha$  и  $TGF-\beta1$ , согласно результатам молекулярно-генетического исследования тканей МП. В группах экспериментального лечения экспрессия вышеуказанных молекул снижалась по сравнению с группой радиационного контроля ( $p<0,05$ ) [41].

Модель лучевого цистита *in vivo* в данной работе позволила подтвердить результаты предыдущего исследования, а также более широко оценить действие КС-МСК. При применении МСК/КС-МСК отмечено повышение количества сосудов подслизистого слоя и снижение фиброобразования мышечного слоя МП после его радиационно-индуцированного повреждения, а также улучшение таких функциональных параметров, как частота и объем мочеиспускания. Данные действия связывают с регулированием уровня цитокинов  $TNF-\alpha$  и  $TGF-\beta1$ . Таким образом, введение как МСК, так и кондиционированной среды МСК способствовало как морфологическому, так и функциональному восстановлению МП.

## ВЫВОДЫ

Анализ литературы позволяет заявлять о том, что внеклеточные везикулы, выделенные из мезенхимных стволовых клеток, могут стать перспективным терапевтическим инструментом в регенеративной урологии. Кроме того, что данные биологические агенты в доклинических исследованиях показывают сопоставимую эффективность с МСК, они способны преодолеть ограничения и проблемы клеточной терапии. В экспериментальных работах, посвященных применению ВВ-МСК на моделях острой и хронической болезни почек, стриктур уретры, мочеоточника, лучевого цистита, стрессового недержания мочи, ВВ-МСК посредством регуляции сигнальных путей успешно реализуют свое проангиогенное, противовоспалительное, антифиброзное действие, что способствует протекции тканей и структур в условиях повреждения, а также их морфологическому и функциональному восстановлению. Требуемыми дальнейшего изучения остаются вопросы дозировки и наиболее эффективного пути и способа введения ВВ-МСК. В работах, которые мы рассмотрели, ВВ-МСК вводились внутривенно, внутриартериально, внутрибрюшинно, местно, однако пути введения не сопоставлялись. Таким образом, требуются последующие исследования для поиска оптимальных путей и методов введения ВВ-МСК. ■

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Jovic D, Yu Y, Wang D, Wang K, Li H, Xu F, Liu C, Liu J, Luo Y. A brief overview of global trends in MSC-based cell therapy. *Stem Cell Rev Rep* 2022;18:1525-1545. <https://doi.org/10.1007/s12015-022-10369-1>.
- Юдинцева Н.М., Шевцов М.А., Хотин М.Г., Виноградова Т.И., Муравьев А.Н., Ремезова А.Н. и др. Применение мезенхимных стволовых клеток и внеклеточных везикул в терапии инфекционных заболеваний. *Молекулярная медицина* 2022;20(6):16-24. [Yudintceva N.M., Shevtsov M.A., Khotin M.G., Vinogradova T.I., Muraviov A.N., Remezova A.N., Mikhailova N.A. Application of mesenchymal stem cells and extracellular vesicles in infectious treatment. *Molekulyarnaya Meditsina = Molecular medicine* 2022;20(6):16-24. <https://doi.org/10.29296/24999490-2022-06-03>. (In Russian)].
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy* 2008;8(4):315-317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>.
- Сагарадзе Г.Д., Ефименко А.Ю., Макаревич О.А., Басалова Н.А., Нимирицкий П.П., Макаревич П.И., Кирпатовский В.И. и др. Секретом мезенхимных стволовых/стромальных клеток (МСК) человека как основа для создания новых препаратов и биоматериалов для регенеративной медицины. *Гены и клетки* 2017;12(3):211-212. [Sagaradze G.D., Efimenko A.Yu., Makarevich O.A., Basalova N.A., Nimiritsky P.P., Makarevich P.I., Kirpatovskiy V.I. et al. Secretome of human mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) as a basis for creating new drugs and biomaterials for regenerative medicine. *Geny i kletki = Genes & Cells* 2017;12(3):211-212. (In Russian)].
- Álvarez-Viejo M. Mesenchymal stem cells from different sources and their derived exosomes: A pre-clinical perspective. *World J Stem Cells* 2020;12(2):100-109. <https://doi.org/10.4252/wjcv.v12.i2.100>.
- Théry C, Witwer KW, Akawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles* 2018;7(1):1-43. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>.
- Jeppesen DK, Zhang Q, Franklin JL, Coffey RJ. Extracellular vesicles and nanoparticles: emerging complexities. *Trends Cell Biol* 2023;33(8):667-681. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2023.01.002>.
- Mathieu M, Martin-Jaular L, Lavie G, Théry C. Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nat Cell Biol* 2019;21(9):9-17. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0250-9>.
- Grange C, Tritta S, Tapparo M, Cedrino M, Tetta C, Camussi G, et al. Stem cell-derived extracellular vesicles inhibit and revert fibrosis progression in a mouse model of diabetic nephropathy. *Sci Rep* 2019;9(4468):1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41100-9>.
- Caplan H, Olson SD, Kumar A, George M, Prabhakara KS, Wenzel P, et al. Mesenchymal stromal cell therapeutic delivery: translational challenges to clinical application. *Front Immunol* 2019;10(1645). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01645>.
- Zhou T, Yuan Z, Weng J, Pei D, Du X, He C, et al. Challenges and advances in clinical applications of mesenchymal stromal cells. *J Hematol Oncol* 2021;14(24). <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01037-x>.
- Li Z, Liu C, Li S, Li T, Li Y, Wang N, et al. BMSC-Derived exosomes inhibit dexamethasone-induced muscle atrophy via the miR-486-5p/FoxO1 Axis. *Front Endocrinol* 2021;12(681267):1-10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.681267>.
- Palanisamy CP, Pei J, Alugouji P, Anthikapalli NVA, Jayaraman S, Veeraraghavan VP, et al. New strategies of neurodegenerative disease treatment with extracellular vesicles (EVs) derived from mesenchymal stem cells (MSCs). *Theranostics* 2023;13(12):4138-4165. <https://doi.org/10.7150/thno.83066>.
- Jia Y, Qiu S, Xu J, Kang Q, Chai Y. Exosomes secreted by young mesenchymal stem cells promote new bone formation during distraction osteogenesis in older rats. *Calcif Tissue Int* 2020;106:509-517. <https://doi.org/10.1007/s00223-019-00656-4>.
- Liu X, Yang Y, Li Y, Niu X, Zhao B, Wang Y, et al. Integration of stem cell-derived exosomes with in situ hydrogel glue as a promising tissue patch for articular cartilage regeneration. *Nanoscale* 2017;9(13):4430-4438. <https://doi.org/10.1039/C7NR00352H>.
- Zhang J, Lu T, Xiao J, Du C, Chen H, Li R, et al. MSC-derived extracellular vesicles as nanotherapeutics for promoting aged liver regeneration. *J Control Release* 2023;356:402-415. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.02.032>.
- Tang J, Cui X, Zhang Z, Xu Y, Guo J, Soliman BG, et al. Injection-free delivery of MSC-Derived extracellular vesicles for myocardial infarction therapeutics. *Adv Health Mater* 2022;11(5):133-140. <https://doi.org/10.1002/adhm.202100312>.
- Figliolini F, Ranghino A, Grange C, Cedrino M, Tapparo M, Cavallari C, et al. Extracellular vesicles from adipose stem cells prevent muscle damage and inflammation in a mouse model of hind limb ischemia: role of Neuregulin-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2019;40(1):239-254. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.313506>.
- Su Y, Guo H, Liu Q. Effects of mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles in acute respiratory distress syndrome (ARDS): Current understanding and future perspectives. *J Leukoc Biol* 2021;110(1):27-38. <https://doi.org/10.1002/JLB.3MR0321-545RR>.
- Tolomeo AM, Castagliuolo I, Piccoli M, Grassi M, Magarotto F, De Lazzari G, et al. Extracellular vesicles secreted by mesenchymal stromal cells exert opposite effects to their cells of origin in murine sodium dextran sulfate-induced colitis. *Front Immunol* 2021;12:1-15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.627605/full>.
- Berger A, Araújo-Filho I, Piffoux M, Nicolás-Boluda A, Grangier A, Boucenna I, et al. Local administration of stem cell-derived extracellular vesicles in a thermoresponsive hydrogel promotes a pro-healing effect in a rat model of colo-cutaneous post-surgical fistula. *Nanoscale* 2021;13(1):218-232. <https://doi.org/10.1039/D0NR07349K>.
- Casado-Díaz A, Quesada-Gómez JM, Dorado G. Extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells (MSC) in regenerative medicine: applications in skin wound healing. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8(146):1-19. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00146>.
- Bruno S, Grange C, Deregibus MC, Calogero RA, Saviozzi S, Collino F, et al. Mesenchymal stem cell-derived microvesicles protect against acute tubular injury. *J Am Soc Nephrol* 2009;20(5):1053-1067. <https://doi.org/10.1681/ASN.2008070798>.
- Zhou Y, Xu H, Xu W, Wang B, Wu H, Tao Y, et al. Exosomes released by human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against cisplatin-induced renal oxidative stress and apoptosis in vivo and in vitro. *Stem Cell Res Ther* 2013;4(34):1-13. <https://doi.org/10.1186/scrt194>.
- Liu Y, Cui J, Wang H, Hezam K, Zhao X, Huang H, et al. Enhanced therapeutic effects of MSC-derived extracellular vesicles with an injectable collagen matrix for experimental acute kidney injury treatment. *Stem Cell Res Ther* 2020;11(161):1-12. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01668-w>.
- Shen B, Liu J, Zhang F, Wang Y, Qin Y, Zhou Z, et al. CCR2 Positive exosome released by mesenchymal stem cells suppresses macrophage functions and alleviates ischemia/reperfusion-induced renal injury. *Stem Cells Int* 2016;41(2):119-128. <https://doi.org/10.1159/000443413>.
- Ravego-Mateos S, Valdivielso JM. New therapeutic targets in chronic kidney disease progression and renal fibrosis. *Expert Opin Ther Targets* 2020;24(7):655-670. <https://doi.org/10.1080/14728222.2020.1762173>.
- He J, Wang Y, Sun S, Yu M, Wang C, Pei X, et al. Bone marrow stem cells-derived microvesicles protect against renal injury in the mouse remnant kidney model. *Nephrology* 2012;17(5):493-500. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2012.01589.x>.
- Kholia S, Herrera Sanchez MB, Cedrino M, Papadimitriou E, Tapparo M, Deregibus MC, et al. Mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles ameliorate kidney injury in aristolochic acid nephropathy. *Front Cell Dev Biol* 2020;8(188):1-17. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00188>.
- Lee K, Nelson CM. New insights into the regulation of epithelial-mesenchymal transition and tissue fibrosis. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012;294:171-221. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394305-7.00004-5>.
- Hills CE, Squires PE. The role of TGF- $\beta$  and epithelial-to mesenchymal transition in diabetic nephropathy. *Cytokine Growth Factor Rev* 2011;22(3):131-139. <https://doi.org/10.1016/j.cytogr.2011.06.002>.
- Meng XM, Tang PM, Li J, Lan HY. TGF- $\beta$ /Smad signaling in renal fibrosis. *Front Physiol* 2015;6(82):1-8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00082>.
- He J, Wang Y, Lu X, Zhu B, Pei X, Wu J, Zhao W. Micro-vesicles derived from bone marrow stem cells protect the kidney both in vivo and in vitro by microRNA-dependent repairing. *Nephrology (Carlton)* 2015;20(9):591-600. <https://doi.org/10.1111/nep.12490>.
- Jacobs ME, de Kemp VF, Albersen M, de Kort LMO, de Graaf P. The use of local therapy in preventing urethral strictures: a systematic review. *PLoS One* 2021;16(10):1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258256>.
- Shi Z, Wang Q, Jiang D. The preventative effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cell exosomes on urethral stricture in rats. *Transl Androl Urol* 2020;9(5):2071-2081. <https://doi.org/10.21037/tau-20-833>.
- Luo J, Zhao S, Wang J, Luo L, Li E, Zhu Z, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells reduce ureteral stricture formation in a rat model via the paracrine effect of extracellular vesicles. *J Cell Mol Med* 2018;22(9):4021-4554. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13744>.
- Dissararan C, Cruz MA, Kiedrowski MJ, Balog BM, Gill BC, Penn MS, et al. Rat mesenchymal stem cell secretome promotes elastogenesis and facilitates recovery from simulated childbirth injury. *Cell Transplant* 2014;23(11):1395-1406. <https://doi.org/10.3727/096368913X670921>.
- Deng K, Lin DL, Hanzlicek B, Balog B, Penn MS, Kiedrowski MJ, et al. Mesenchymal stem cells and their secretome partially restore nerve and urethral function in a dual muscle and nerve injury stress urinary incontinence model. *Am J Physiol Renal Physiol* 2015;308(2):92-100. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00510.2014>.
- Ni J, Li H, Zhou Y, Gu B, Xu Y, Fu Q, et al. Therapeutic potential of human adipose-derived stem cell exosomes in stress urinary incontinence – an in Vitro and in Vivo study. *Cell Physiol Biochem* 2018;48(4):1710-1722. <https://doi.org/10.1159/000492298>.
- Helissey C, Guitard N, Théry H, Goulinet S, Mauduit P, Girleanu M, et al. Two new potential therapeutic approaches in radiation cystitis derived from mesenchymal stem cells: extracellular vesicles and conditioned medium. *Biology* 2022;11(980):1-20. <https://doi.org/10.3390/biology11070980>.
- Qiu X, Zhang S, Zhao X, Fu K, Guo H. The therapeutic effect of adipose-derived mesenchymal stem cells for radiation-induced bladder injury. *Stem Cells Int* 2016;2016(1):1-8. <https://doi.org/10.1155/2016/3679047>.

**Сведения об авторах:**

Иванова Я.Г. – аспирант по специальности хирургия ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; Санкт-Петербург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4885-8095>

Муравьев А.Н. – к.м.н., ученый секретарь, ведущий научный сотрудник, руководитель научно-исследовательской лаборатории клеточной биологии и регенеративной медицины ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; доцент кафедры хирургии и урологии им. профессора Б.И. Мирошникова ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт»; Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 641131, <https://orcid.org/0000-0002-6974-5305>

Виноградова Т.И. – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель научно-исследовательской лаборатории экспериментальной медицины ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 639477, <https://orcid.org/0000-0002-5234-349X>

Орлова Н.В. – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории клеточной биологии и регенеративной медицины ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 767330, <https://orcid.org/0000-0002-6572-5956>

Ремезова А.Н. – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории клеточной биологии и регенеративной медицины ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 1151862, <https://orcid.org/0000-0001-8145-4159>

Горелова А.А. – к.м.н., доцент кафедры урологии Санкт-Петербургского государственного университета; врач-онколог отделения онкоурологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России; Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 1026305, <https://orcid.org/0000-0002-7010-7562>

Горбунов А.И. – к.м.н., научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории патологии позвоночника, врач-уролог ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 828231, <https://orcid.org/0000-0002-0656-4187>

Шумко В.В. – стажёр ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; Санкт-Петербург, Россия; <https://orcid.org/0009-0008-6843-1145>

Юдинцева Н.М. – к.б.н., старший научный сотрудник ФГБУН Институт цитологии Российской академии наук (ИИЦ РАН); Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 95652, <https://orcid.org/0000-0002-7357-1571>

Нащеккина Ю.А. – к.б.н., старший научный сотрудник ФГБУН Институт цитологии Российской академии наук (ИИЦ РАН); Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 173826, <https://orcid.org/0000-0002-4371-7445>

Полякова В.О. – д.б.н., профессор РАН, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 130885, <https://orcid.org/0000-0001-8682-9909>

Яблонский П.К. – д.м.н., профессор, заслуженный врач Российской Федерации, директор ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России; проректор по медицинской деятельности ФГБУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; Санкт-Петербург, Россия; RINЦ Author ID 196793, <https://orcid.org/0000-0003-4385-9643>

**Вклад авторов:**

Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение прав пациентов.** Пациент подписал информированное согласие на публикацию.

**Финансирование:** Исследование проведено без финансовой поддержки.

**Статья поступила:** 16.07.24

**Результаты рецензирования:** 28.10.24

**Исправления получены:** 27.11.24

**Принята к публикации:** 01.12.24

**Information about authors:**

Ivanova Ya.G. – graduate student in surgery of Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; Saint-Petersburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4885-8095>

Muraviov A.N. – PhD, Academic secretary, leading researcher, head of the Research Laboratory of Cell Biology and Regenerative Medicine of Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Assistant Professor of department of Surgical Diseases Private University «Saint-Petersburg Medico-Social Institute»; Saint-Petersburg, Russia; RSCI Author ID 641131, <https://orcid.org/0000-0002-6974-5305>

Vinogradova T.I. – Dr. Sci., Professor, Leading researcher, head of the Research Laboratory of Experimental Medicine of the Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; Saint-Petersburg, Russia; RSCI Author ID 639477, <https://orcid.org/0000-0002-5234-349X>

Orlova N.V. – PhD, Senior researcher of the Research Laboratory of Cell Biology and Regenerative Medicine of Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; Saint-Petersburg, Russia; RSCI Author ID 767330, <https://orcid.org/0000-0002-6572-5956>

Remezova A.N. – junior researcher of the Research Laboratory of Cell Biology and Regenerative Medicine of Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; Saint-Petersburg, Russia; RSCI Author ID 1151862, <https://orcid.org/0000-0001-8145-4159>

Gorelova A.A. – PhD, Assistant professor of Department of Hospital Surgery, Medical faculty, Saint-Petersburg State University; Oncologist at the Department of Urology-Oncology N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Healthcare of Russian Federation; Saint-Petersburg, Russia; RSCI Author ID 1026305, <https://orcid.org/0000-0002-7010-7562>

Gorbulnov A.I. – PhD, researcher of the Research Laboratory of Spinal Pathology, urologist of Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; Saint-Petersburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0656-4187>

Shumko V.V. – Intern of Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; Saint-Petersburg, Russia; <https://orcid.org/0009-0008-6843-1145>

Yudinseva N.M. – PhD, Senior researcher of the Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences; Saint-Petersburg, Russia; RSCI Author ID 95652, <https://orcid.org/0000-0002-7357-1571>

Naschekina Yu.A. – PhD, Senior researcher of the Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences; Saint-Petersburg, Russia; RSCI Author ID 173826; <https://orcid.org/0000-0002-4371-7445>

Polyakova V.O. – Dr. Sci., Professor of RAS, Deputy Director for Research director of Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; Saint-Petersburg, Russia; RSCI Author ID 130885, <https://orcid.org/0000-0001-8682-9909>

Yablonsky P.K. – Dr. Sci., Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, director of Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; Vice-rector of medical of activity of Saint-Petersburg State University; Saint-Petersburg, Russia; RSCI Author ID 196793, <https://orcid.org/0000-0003-4385-9643>

**Authors' contributions:**

The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

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

**Compliance with patient rights.** The patient gave written informed consent to the publication.

**Financing.** The article was published without financial support.

**Received:** 16.07.24

**Peer review:** 28.10.24

**Corrections received:** 27.11.24

**Accepted for publication:** 01.12.24