

DOI: 10.15825/1995-1191-2015-4-46-53

# ВЛИЯНИЕ АЛЛОГЕННЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРОТОВОИШЕМИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ПОЧЕК

С.С. Мещерин<sup>1</sup>, Н.А. Онищенко<sup>1</sup>, О.В. Баранова<sup>2</sup>, В.И. Севастьянов<sup>1</sup>,  
П.В. Аврамов<sup>1</sup>, Д.Н. Круглов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГАУ «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

**Цель работы** – изучить влияние сроков внутривенного введения аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (ММСК КМ) на функциональное и морфологическое состояние почки при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения почки (ИРПП). **Материалы и методы.** Исследование выполнено на 90 крысах – самцах породы Вистар. На модели ИРПП единственной почки (60 мин тепловой ишемии) выполнено 4 группы опытов: в 1-й группе – за 14 сут до ИРПП внутривенно вводили ММСК КМ в дозе  $5 \times 10^6$  клеток; во 2-й группе ММСК КМ в той же дозе вводили за 7 сут до ИРПП; в 3-й группе ММСК КМ в той же дозе вводили во время реперфузии почки после моделирования ИРПП; 4-я группа служила контролем (ИРПП без ММСК КМ). Продолжительность эксперимента – 21 сут с момента начала моделирования ИРПП. Во всех группах опытов исследовали азотовыделительную функцию почек и оценивали их гистологическое состояние в течение всего восстановительного периода. Кроме того, у крыс 1-й и 4-й групп в сыворотке крови исследовали уровень про- и противовоспалительных цитокинов и показатели фагоцитоза с помощью взвеси нежизнеспособных *St. aureus*. Достоверность различий в сравниваемых группах оценивали по критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ . **Результаты.** Показано, что предварительное введение ММСК КМ (за 1–2 нед. до моделирования ИРПП) повышает противоишемическую резистентность почки, тогда как введение ММСК КМ в день моделирования ИРПП (на этапе реперфузии) усиливает процессы повреждения почки: повышает летальность, содержание креатинина и мочевины в крови и деструкцию почечной ткани по сравнению с другими группами. Из сравнительного анализа 1-й и 4-й групп животных следует, что ММСК КМ снижают уровень провоспалительных и повышают уровень противовоспалительных цитокинов, а также повышают потенциал противомикробной защиты организма. **Выводы.** Внутривенное введение ММСК КМ в организм за 1–2 нед. до моделирования ИРПП повышает резистентность почки к ишемии, снижает выраженность системной воспалительной реакции, а также опасность развития инфекционных осложнений. Однако, учитывая возможность суммации повреждающего воздействия ишемии и стрессорного воздействия адаптирующих доз ММСК КМ на ткань ишемизированной почки в реперфузионном периоде, поиск оптимальных концентраций ММСК КМ для обеспечения противоишемической резистентности почки на этапе реперфузии должен быть продолжен.

**Ключевые слова:** почка, индукционная терапия, ММСК костного мозга, ишемически-реперфузионное повреждение, экспериментальная модель, трансплантация.

**Для корреспонденции:** Мещерин Сергей Сергеевич. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (963) 644-96-36. E-mail: ssergeevi4@mail.ru.

**For correspondence:** Mescherin Sergey Sergeevich. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. (963) 644-96-36. E-mail: ssergeevi4@mail.ru.

# INFLUENCE OF BONE MARROW ALLOGENEIC MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS ON THE FORMATION OF ANTI-ISCHEMIC KIDNEY PROTECTION

S.S. Mescherin<sup>1</sup>, N.A. Onischenko<sup>1</sup>, O.V. Baranova<sup>2</sup>, V.I. Sevostianov<sup>1</sup>,  
P.V. Avramov<sup>1</sup>, D.N. Kruglov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Medical Rehabilitation Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

**Aim** of this work was to study the influence of intravenous injection times of bone marrow allogeneic multipotent mesenchymal stromal cells (BM MMSCs) on kidney function and morphology in modeled ischemic-reperfusion injury of kidney (IRIK). **Materials and methods.** The study was conducted on 90 male Wistar rats. On the original IRI model of a single kidney (60 min, warm ischemia) 4 groups of experiments were performed: in the first group the dose of  $5 \times 10^6$  of BM MMSCs was administered intravenously 14 days before IRIK modeling; in the second group, the same dose of BM MMSCs was administered 7 days before IRIK; in the third group, the same dose of BM MMSCs was administered during kidney reperfusion after IRIK modeling; the fourth group served as the control group (IRIK without BM MMSCs). The study duration was 21 days since the start of IRIK modeling. In all groups the nitrogen secretory function of kidneys was examined and the histological condition of kidneys during the entire recovery period was evaluated. Besides, blood of rats of the first and the fourth groups was examined for pro- and anti-inflammatory cytokine levels and phagocytosis indices using the suspension of inactivated *St. aureus*. The significance of differences in these two groups was evaluated by Student's test at  $p < 0.05$ . **Results.** It has been demonstrated that the pretreatment with BM MMSCs (1 and 2 weeks before IRIK modeling) increased the anti-ischemic resistance of kidney while the administration of BM MMSCs on the day of IRIK modeling (during reperfusion) enhanced kidney damage, characterized by increased mortality, elevated levels of urea and creatinine in blood and structural injury of renal tissue, as compared to other groups. The comparative analysis of the first and fourth groups shows that BM MMSCs decrease the levels of pro-inflammatory cytokines and increase the levels of anti-inflammatory cytokines, as well as enhance potential of antimicrobial protection. **Conclusion.** Intravenous injection of BM MMSCs 1–2 weeks prior to IRIK modeling increases the kidney resistance to ischemia, reduces the severity of the systemic inflammatory response as well as the risk of infectious complications. However, considering the possibility of the summation of the injuring influence of ischemia and the stress of the adapting doses of BM MMSCs on ischemic kidney tissue during reperfusion, the search for the optimal concentrations of BM MMSCs needs to be continued.

*Key words: kidney, induction therapy, MMSCs, bone marrow, ischemic-reperfusion injury, experimental model, transplantation.*

## ВВЕДЕНИЕ

Как известно, индукционная терапия при трансплантации органов предназначена блокировать активацию иммунного ответа в организме реципиента в раннем посттрансплантационном периоде. Для этих целей при трансплантации почки стали использовать анти тимоцитарный глобулин (АТГ) или Алемтузумаб®, индуцирующий лимфодеплецию, и препарат Базиликсимаб®, инактивирующий IL-2-рецепторы на активированных Т-лимфоцитах [1, 2]. С помощью этих препаратов удается снизить частоту возникновения эпизодов острого отторжения и улучшить раннюю функцию трансплантата. Однако при этом не устраняются действие неспецифических факторов на пересаженный орган и реактивация вирусных инфекций из-за появления в организ-

ме реципиента молекул активации врожденного иммунитета, в том числе из ишемически поврежденного органа. В связи с этим остается актуальным поиск препаратов, позволяющих устранить нежелательные эффекты неспецифических факторов, проявляющихся в раннем посттрансплантационном периоде (ишемическое повреждение трансплантата, активация вирусных инфекций, токсические эффекты иммуносупрессивных препаратов и др.).

В последние годы при трансплантации органов большое внимание стали уделять изучению роли клеток и факторов тканевого микроокружения иммунокомпетентных клеток, которые способны реализовывать свои иммунорегуляторные (иммуносупрессирующие) свойства [3]. Среди тканевых факторов микроокружения особый интерес вызыва-

ют повсеместно присутствующие периваскулярные стромальные клетки (перициты), которые по своим свойствам идентичны мультипотентным мезенхимальным стромальным клеткам костного мозга (ММСК КМ) и находятся с ними в постоянном информационном взаимодействии [4, 5].

Установлено, что ММСК КМ обладают иммуномодулирующими свойствами при воздействии факторов активации врожденного и адаптивного иммунитета [6]. Они ингибируют Т-клеточную пролиферацию и дифференцировку моноцитов в дендритные (антигенпрезентирующие) клетки, модулируют В-клеточные функции и супрессируют цитотоксические эффекты натуральных киллеров [7, 8].

Со свойствами иммуномодуляции стали связывать возможность использования ММСК КМ для индукционной терапии и предотвращения острой реакции отторжения трансплантата в эксперименте [9, 10] и в клинике [8, 11–13].

Между тем, несмотря на доказанную способность ММСК КМ модулировать иммунный ответ и снижать частоту эпизодов острого отторжения почки в раннем посттрансплантационном периоде [8, 13–16], для разработки безопасного и эффективного протокола клеточной индукционной терапии с помощью ММСК КМ необходимы дальнейшие исследования.

Целью работы явилось изучение влияния сроков внутривенного введения аллогенных ММСК КМ на функциональное и морфологическое состояние почки при экспериментальном моделировании ишемически-реперфузионного повреждения почки (ИРПП).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 90 крысах-самцах породы Вистар массой тела 190–220 г, содержащихся в виварии ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России на смешанном рационе питания со свободным доступом к воде, при температуре окружающей среды 18–20 °С. При выполнении работы на животных руководствовались этическими принципами их гуманного использования в экспериментах. На 80 крысах моделировали ИРПП с внутривенным введением на разных этапах ИРПП культивированных аллогенных ММСК КМ (10 крыс). Моделирование ИРПП проводили под ингаляционным эфирным наркозом путем 60-минутной ишемии единственной почки (контрлатеральную почку удаляли) с помощью наложения лигатуры на сосудистую ножку (рис. 1).

Лабораторные животные были разбиты на 4 группы: в 1-й группе (n = 16) за 14 сут до моделирования ИРПП крысам внутривенно вводили культивированные аллогенные ММСК КМ в дозе 5 млн клеток; во 2-й группе (n = 21) ММСК КМ вводили в той же дозе за 7 сут до моделирования ИРПП;

в 3-й группе (n = 24) ММСК КМ вводили в той же дозе на этапе реперфузии ишемизированной почки; 4-я группа (n = 19) служила контролем – моделирование ИРПП без введения ММСК КМ.

Для получения культивированных ММСК КМ использовали 10 крыс-самцов породы Вистар. Под эфирным ингаляционным наркозом из костномозгового канала бедренных и большеберцовых костей забирали клетки костного мозга путем аспирации шприцем с иглой диаметром 18G, содержащим среду для забора (0,5 мл фосфатно-буферного раствора с 50 ЕД/мл гепарина и 0,25 мг/л гентамицина). Суспензию клеток КМ центрифугировали при 1500 об./мин (350g) 5 мин, осадок клеток ресуспендировали в растворе для лизиса эритроцитов (114 мМ NH<sub>4</sub>Cl, 7,5 мМ HCO<sub>3</sub>, 100 мкМ EDTA) в течение 3 мин и повторно центрифугировали. Гемолизированный супернатант удаляли, а клеточный осадок ресуспендировали в среде DMEM (ПанЭко, Россия), содержащей 10% телячью эмбриональную сыворотку (HyClone gold, USA), инсулин 0,4 мкМ и 0,25 мг/л гентамицина. Выделенные клетки представляли собой первичную культуру преимущественно мононуклеарных клеток КМ. Полученные клетки высевали в культуральные флаконы и помещали в CO<sub>2</sub>-инкубатор с 5% концентрацией CO<sub>2</sub> и 95% содержанием атмосферного воздуха с повышенной влажностью. Через 2 сут после выделения первичной культуры неприкрепившуюся клеточную взвесь удаляли, а оставшиеся клетки с фибробластоподобной морфологией продолжали культивировать. Замену культуральной среды на свежую осуществляли через каждые 3–4 сут. После образования 75–80% монослоя клетки однократно отмывали раствором Версена, затем снимали раствором Версена с 0,25% Трипсина, ресуспендировали в

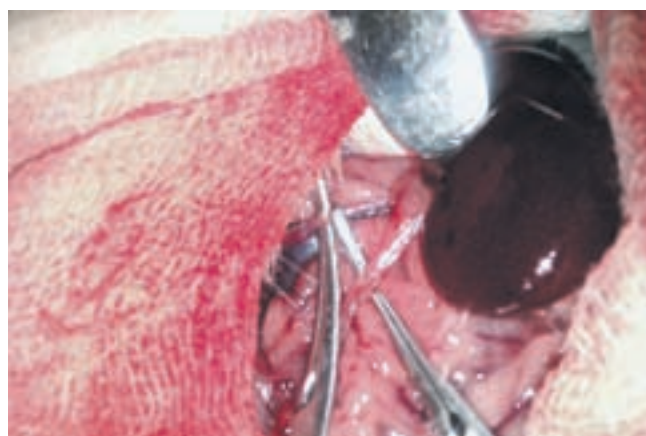


Рис. 1. Моделирование ишемии почки путем наложения лигатуры на сосудистую ножку (этап моделирования ИРПП)

Fig. 1. Modeling kidney ischemic damage by ligation of the renal vascular pedicle (stage of IRIK modeling)

ростовой среде и разливали в новую культуральную посуду. Клеточный материал, представляющий собой прикрепившиеся к пластику распластанные фибробластоподобные клетки (мезенхимальные стромальные клетки), сохранявший популяционную активность и не содержащий погибшие клетки, считали пригодным для использования. Стромальное происхождение ММСК КМ было подтверждено иммуногистохимически в культуре путем выявления в них коллагена 1-го типа с помощью кроличьих моноклональных антител («Имтэк»).

Для эксперимента использовали ММСК КМ 1 и 2 пассажа с внутривенным введением однократной дозы, содержащей  $5 \times 10^6$  клеток.

Для объективной оценки влияния аллогенных ММСК КМ на формирование противоишемической резистентности почек на модели ИРПП на 1, 3, 5, 10, 15 и 21-е сут измеряли уровень креатинина и мочевины в сыворотке крови и проводили гистологическое исследование препаратов почек после окрашивания гематоксилином и эозином. На этих же животных (в 1-й и 4-й группах опытов) оценивали динамику системной воспалительной реакции и уровень противоинфекционной резистентности крыс. Для этого в сыворотке крови измеряли уровень про- и противовоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , INF $\gamma$ , IL-10, IL-4, TGF- $\beta$ ) и определяли фагоцитарную активность нейтрофилов. Содержание цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-систем Diamed (Швейцария) в соответствии с протоколом производителя, прилагаемым к наборам. Подсчет результатов содержания цитокинов в пробах сыворотки крови проводили на планшетном фотометре Picon (Россия) при длине волны 450 нм. Фагоцитарную активность нейтрофилов крови определяли стандартным методом с использованием убитой взвеси *St. aureus*, подсчитывая количество фагоцитирующих клеток на 100 нейтрофилов (фа-

гоцитарный индекс %) и количество микробных тел, поглощенных в среднем одним нейтрофилом (фагоцитарное число). Рассчитывали абсолютный фагоцитарный показатель. Достоверность различий в сравниваемых группах определяли по критерию Стьюдента, при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех 4 экспериментальных группах при моделировании 60 минутной ишемии имела место гибель животных (табл. 1), частота возникновения которой зависела от срока введения ММСК КМ. В 1-й и 2-й группах, в которых ММСК КМ вводили до моделирования ИРПП, гибель животных происходила в первые двое суток от начала эксперимента и не превышала 6,2%, в то время как в контрольной 4-й группе гибель животных (10,5%) наступала на 3-и и 4-е сут.

Наибольшую гибель животных (37%) наблюдали в 3-й группе, где ММСК КМ вводили на этапе реперфузии, то есть сразу после 60-минутной тепловой ишемии. Более того, гибель животных наблюдали и на первые двое суток после моделирования ИРПП (аналогично 1-й и 2-й группам), и на 3–4-е сут, как для контрольной 4-й группы).

На рис. 2 представлены динамика концентрации креатинина (а) и мочевины (б) в сыворотке крови крыс после моделирования 60-минутной ишемии единственной почки на протяжении 16 сут.

Максимальных значений уровень креатинина и мочевины в сыворотке крови животных в 1, 2 и 4-й группах достигал на 1-е сут от начала эксперимента, тогда как в 3-й группе – на 3-и сут с достоверно ( $p < 0,05$ ) более высокими значениями показателей (креатинин  $543 \pm 15$  мкмоль/л; мочевина  $79,3 \pm 3,1$  ммоль/л) по сравнению с остальными группами животных. Максимальные изменения показателей (на 1-е сут эксперимента) в этих группах составили: в 4-й группе (контроль) – креатинин  $408 \pm 20$  мкмоль/л; мочевина  $65 \pm 5,1$  ммоль/л;

Таблица 1

### Гибель животных при моделировании ИРПП в разных группах в зависимости от срока внутривенного введения аллогенных ММСК КМ

#### Animal mortality in IRIK modeling in different groups depending on the time after BM MMSCs intravenous injection

Группа опытов	Общее количество животных	Количество погибших животных	Сроки гибели (сутки после ИРПП)
1. Введение ММСК КМ за 14 сут до ИРПП	16	1 (6,2%)	1
2. Введение ММСК КМ за 7 сут до ИРПП	21	1 (4,5%)	2
3. Введение ММСК КМ на этапе реперфузии	24	9 (37,5%)	1-е сутки – 2 2-е сутки – 3 3-и сутки – 2 4-е сутки – 2
4. Контроль (моделирование ИРПП без введения ММСК КМ)	19	2 (10,5%)	3-и сутки – 1 4-е сутки – 1
Всего	80	13 (16,2%)	



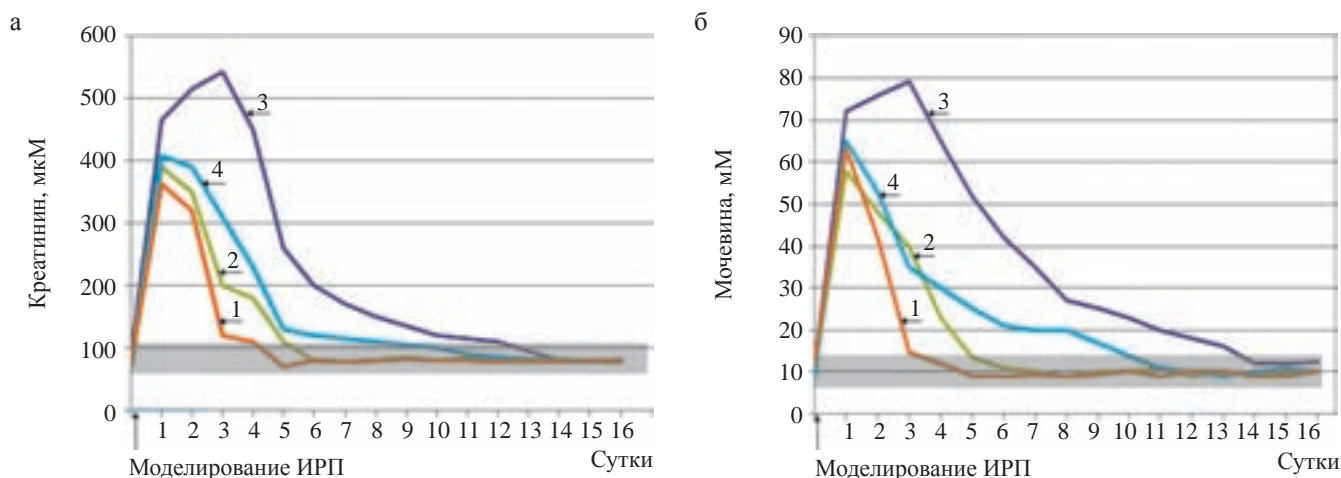


Рис. 2. Изменения показателей азотовыделительной функции почек в сыворотке крови крыс после моделирования ИРПП почки (ишемия единственной почки 60 мин): а – динамика креатинина в мкмоль/л; б – динамика мочевины в ммоль/л. 1 – введение ММСК КМ за 14 сут до ИРПП; 2 – введение ММСК КМ за 7 сут до ИРПП; 3 – введение ММСК КМ на этапе реперфузии моделирования ИРПП; 4 – контроль, моделирование ИРПП без введения ММСК КМ. Физиологические значения этих показателей для крыс: креатинин 68–104 мкмоль/л, мочевина 8–14 ммоль/л (17)

Fig. 2. Changes of values of nitrogen excretion renal function in the blood serum of rats after modeling IRPK (single kidney ischemia, 60 minutes): а – dynamics of creatinine in μmol/l; б – dynamics of urea in mmol/l. 1 – injection of BM MMSCs 14 days before IRPK; 2 – injection of BM MMSCs 7 days before IRPK; 3 – injection of BM MMSCs at reperfusion stage of modeling IRPK; 4 – control, modeling IRPK without introducing BM MMSCs. Physiological values of these parameters for rats: creatinine of 68–104 μmol/l, urea of 8–14 mmol/l (17)

в 1-й и 2-й группах – креатинин  $363 \pm 15$  и  $390 \pm 25$  мкмоль/л соответственно; мочевина –  $63,5 \pm 5,3$  и  $58 \pm 4,5$  ммоль/л соответственно. Различия показателей в 1-й и 2-й группе по сравнению с контролем были недостоверны ( $p > 0,05$ ) за исключением значений креатинина в 1-й группе опытов, где ММСК КМ вводили за 14 сут до моделирования ИРПП. После достижения максимальных значений концентраций креатинина и мочевины наблюдали дальнейшие различия в динамике восстановления азотовыделительной функции почки в 4 исследуемых группах (рис. 2). В 1-й и во 2-й группах показатели креатинина и мочевины в сыворотке крови животных к 5-м сут моделирования ИРПП были в пределах нормы или близки к значениям верхней границы нормы (в 1-й группе –  $71 \pm 3,0$  мкмоль/л и  $10,7 \pm 3,2$  ммоль/л, во 2-й группе  $100 \pm 8$  мкмоль/л и  $14,5 \pm 4,3$  ммоль/л, соответственно).

В 3-й и 4-й группах значения этих показателей приходили в норму только на 10-е и 15-е сут после моделирования ИРПП.

На рис. 3 приведены результаты сравнительного гистологического анализа морфологического состояния почек на 5-е сут после моделирования ИРПП при различных сроках введения ММСК КМ. Признаки повреждения канальцев и явления воспалительной инфильтрации почечной ткани имеют место во всех 4 группах. Однако где ММСК КМ вводили за 14 и 7 сут до моделирования ИРПП (1-я и 2-я группы животных), преобладают явления дистрофии канальцевого эпителия (рис. 3, а, б), а для

3-й и 4-й групп были резко выражены явления канальцевого некроза (рис. 3, в, г).

Из результатов сравнительной оценки функционального и морфологического состояния почек в 4 группах опытов следует, что, с одной стороны, аллогенные ММСК КМ при предварительном введении в организм за 1–2 нед. оказывают положительное влияние на противоишемическую резистентность почечной ткани: происходит более быстрое восстановление азотовыделительной функции, и отсутствуют признаки канальцевого некроза ишемизированной почки по сравнению с 3-й и 4-й группами. Можно предположить, что этот эффект достигается за счет присущих ММСК КМ свойств адаптогенов [18], которые заблаговременно (в нормальных до ишемических условиях) формируют повышение резистентности клеток и тканей различных органов к действию неблагоприятных факторов.

С другой стороны, выявление достоверно большего количества погибших животных в 3-й группе (введение ММСК КМ в момент реперфузии после воздействия ишемического фактора) сопровождалось более тяжелыми функциональными и морфологическими нарушениями почки, и это, скорее всего, было обусловлено суммацией стрессорного воздействия ишемического фактора и аллогенных ММСК КМ, реализация адаптирующего действия которых осуществлялась уже при отсутствии энергетических резервов в ишемизированной почке. По-видимому, в таких условиях должна быть другая оптимальная концентрация аллогенных

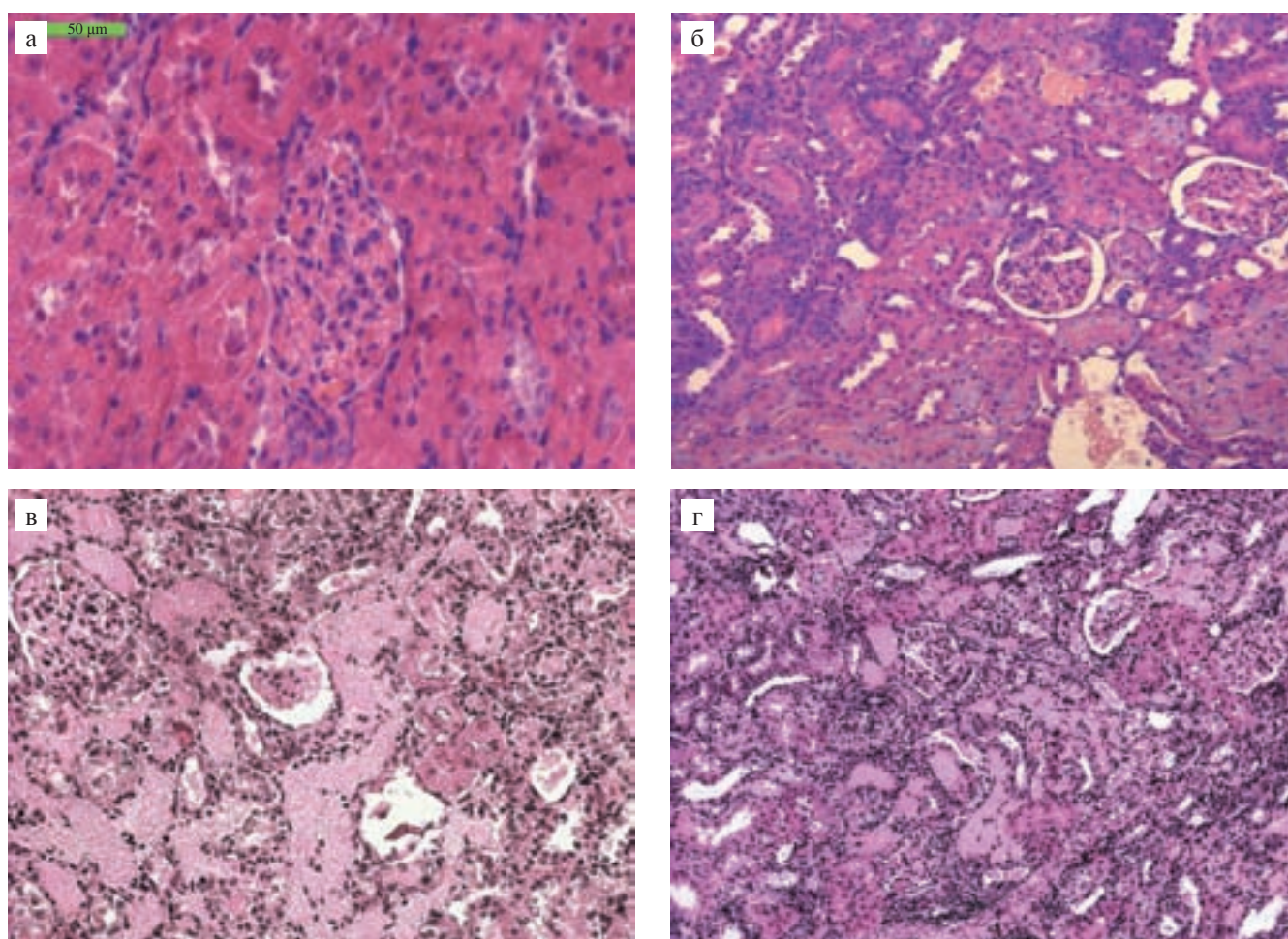


Рис. 3. Гистологическое состояние почек крыс на 5-е сут после моделирования ИРПП (60 мин тепловой ишемии единственной почки).  $\times 200$ : а – введение ММСК КМ за 14 сут до ИРПП; б – введение ММСК КМ за 7 сут до ИРПП; в – введение ММСК КМ на стадии реперфузии ИРПП; г – ИРПП без введения ММСК КМ (контроль)

Fig. 3. Histology of the rat kidneys on the day 5 after IRIK modeling (60 minutes of warm ischemia of single kidney).  $\times 200$ : а – injection of BM MMSCs 14 days before IRIK; б – injection of BM MMSCs 7 days prior to IRIK; в – injection of BM MMSCs at reperfusion stage of IRIK; г – IRIK without BM MMSCs injection (control)

ММСК КМ, которая смогла бы повысить противоишемическую резистентность почки. Однако поиск такой дозы должен быть продолжен.

Для 1-й группы животных были проведены дополнительные исследования по влиянию аллогенных ММСК КМ на неспецифические показатели иммунитета (содержание про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, фагоцитарный индекс и абсолютный фагоцитарный показатель нейтрофилов крови). Оказалось, у животных с введением ММСК КМ за 14 сут до моделирования ИРПП наступает и более длительно сохраняется снижение выраженности системной воспалительной реакции в организме по сравнению с контролем (4-я группа). На 10-е сут после моделирования ИРПП происходит динамическое снижение уровня провоспалительных цитокинов ( $IL-1\beta$ ,  $INF\gamma$ ,  $TNF\alpha$ ) и повышение уровня противовоспалительных цитокинов ( $IL-10$ ,  $IL-4$ ,  $TGF\beta$ ) в сыворотке крови животных (рис. 4, а, б).

По-видимому, снижение выраженности системной воспалительной реакции в организме способствует созданию более благоприятных условий для нормализации функции почки в ранние сроки как после моделирования ИРПП, так и в раннем посттрансплантационном периоде. Действительно, установлено снижение токсичности циклоспорина А и возможность снижения его дозы при проведении иммуносупрессии после трансплантации почки на фоне применения ММСК КМ [13].

Изучение фагоцитарного индекса и абсолютного фагоцитарного показателя в опытах с внутривенным введением ММСК КМ и моделированием ИРПП показало (табл. 2), что введение ММСК КМ за 7–14 сут до моделирования ИРПП способствует повышению неспецифической противоишемической резистентности организма по сравнению с контролем.

Повышение противоишемической резистентности сохраняется у крыс, по нашим наблюдениям, не менее 7 мес. от срока введения ММСК КМ.

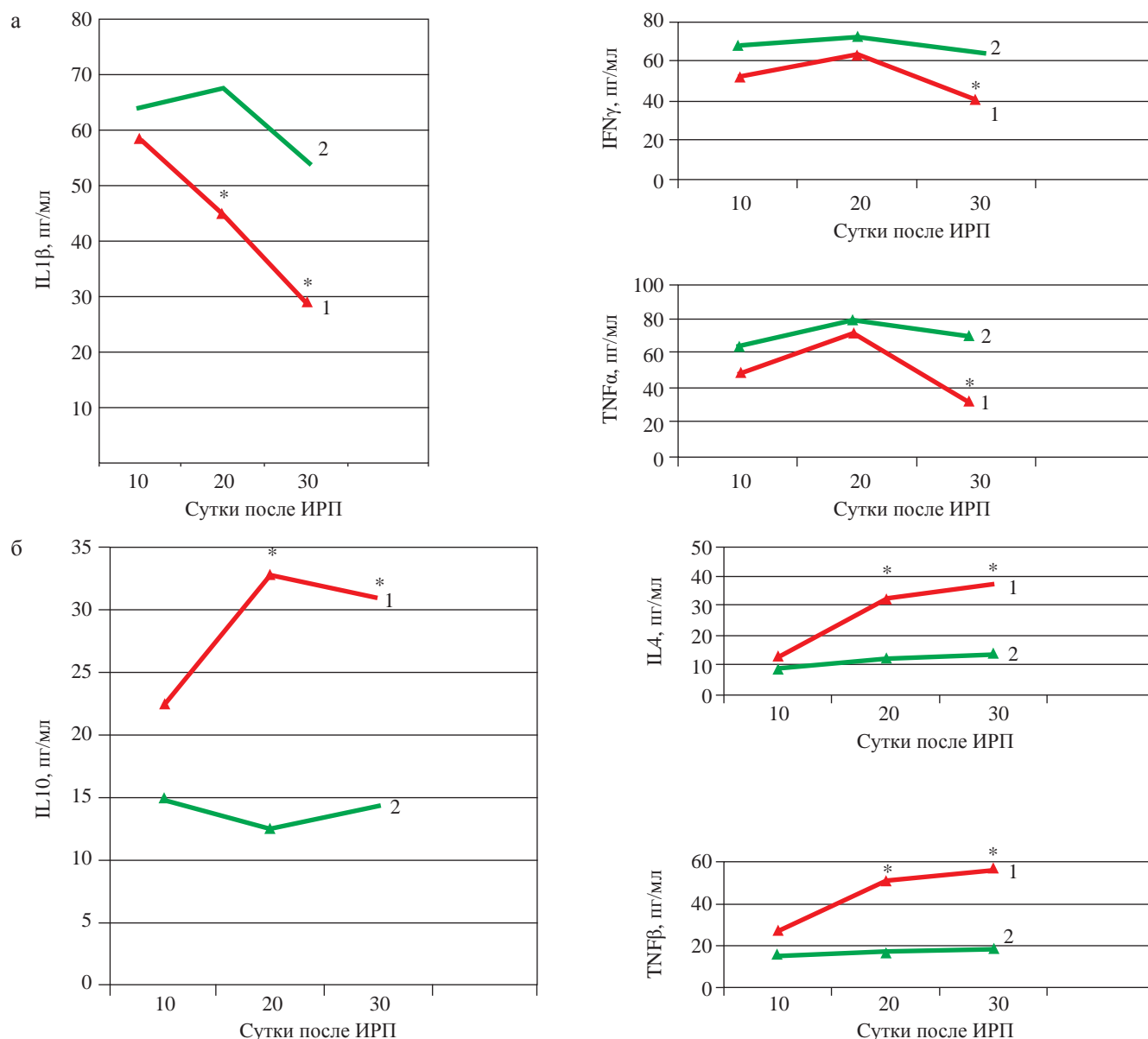


Рис. 4. Динамика провоспалительных (а) и противовоспалительных (б) цитокинов в сыворотке крови у крыс с моделированием ИРП почки (60 мин тепловой ишемии единственной почки): 1 – введение ММСК КМ за 14 дней до ИРП; 2 – ИРП без введения ММСК КМ (контроль). \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

Fig. 4. Dynamics of proinflammatory (a) and anti-inflammatory (б) cytokines in the blood serum in rats with IRIK modeling (60 minutes of warm ischemia of single kidney): 1 – injection of BM MMSCs 14 days prior to IRIK; 2 – IRIK without the introduction of BM MMSCs (control). \* –  $p < 0.05$  as compared to the control

Таблица 2

**Результаты измерения фагоцитарного индекса и абсолютного фагоцитарного показателя в опытах с моделированием ИРП и введением ММСК КМ**

**The results of the measurement of phagocytic index and absolute phagocytic index in experiments with modeling of IRIK and injection of BM MMSCs**

Показатели	Группы опытов	Исследуемые сроки после моделирования ИРП	
		На 7–10-е сут	На 21-е сут
Фагоцитарный индекс (%) у здоровых крыс 60–70%	1	65–77	75–80
	2	62–72	74–80
	3	48–58	70–75
	4	45–59	50–60
Абсолютный фагоцитарный показатель (кол-во микробных тел /10 <sup>9</sup> л) у здоровых крыс 16 632–20 316	1	22 665–25 336	22 570–26 310
	2	20 145–24 342	20 748–25 267
	3	11 123–13 724	18 248–22 436
	4	11 207–14 600	16 715–19 227



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предварительное введение ММСК КМ за одну-две недели до моделирования 60-минутной ишемии единственной почки повышает противоишемическую резистентность почечной ткани и способствует более раннему восстановлению ее структуры и функции. Кроме того, этот метод снижает выраженность системной воспалительной реакции и повышает потенциал противомикробной защиты организма клетками системы врожденного иммунитета (нейтрофилами). Однако введение ММСК КМ сразу после моделирования ИРПП (на этапе реперфузии) усиливает процессы повреждения почки: повышает летальность животных, уровень креатинина и мочевины в сыворотке крови на 1–3-и сут, а также выраженность и длительность канальцевого некроза в почечной ткани.

Учитывая вышеизложенное, необходимо продолжить поиск оптимальной дозы ММСК КМ для обеспечения максимально возможной противоишемической резистентности почки при использовании ММСК КМ в реперфузионном периоде.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Lebranchu Y, Bridoux F, Buchter M. Immunoprophylaxis with basiliximab compared with antithymocyte globulin in renal transplanted patients, receiving MMF-containing triple therapy. *Am. J. Transplant.* 2002; 2 (1): 48–56.
2. Hanaway MJ, Woodle ES, Mulgaonkar S. INTAC Study Group. Alemtuzumab induction in renal transplantation. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364 (20): 1909–1919.
3. Dugast AS, Vanhove B. Immune regulation by non-lymphoid cells in transplantation. *Clin. Exp. Immunol.* 2009 Apr; 156 (1): 25–34.
4. Crisan M, Yap S, Casteilla L, Chen CW, Corselli M, Park TS et al. Perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell, Stem cell.* 2008; 3: 301–313.
5. Caplan AI. All MSC are pericytes? *Cell, Stem cell.* 2008; 3: 229–230.
6. Aggarwal S, Pittenger R. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood.* 2005; 105: 1815–1822.
7. Климович ИБ. Стволовые клетки как иммуномодуляторы при использовании клеточных технологий. *Клеточные технологии для регенеративной медицины / Под ред. Г.П. Пинаева, М.С. Богдановой, А.М. Кольцовой.* СПб.: Изд-во Политехнического университета, 2011; 62–86. Klimovich VB. Stem cells as immunomodulators at using of cellular technology. *Cellular technology for regenerative medicine* (ed. G.P. Pinaev, M.S. Bogdanova, A.M. Koltsova). SPb.: Publishing House of Polytechnical University, 2011; 62–86.
8. Hoogduijn MJ, Popp FC, Grohnert A et al. MISOT Study Group. Advancement of mesenchymal stem cell therapy in solid organ transplantation (MISOT). *Transplantation.* 2010; 90 (2): 124–126.
9. Cao Z, Zhang G, Wang F, Liu H, Liu L, Han Y et al. Protective effects of mesenchymal stem cells with CXCR4 up-regulation in rat renal transplantation model. *PLoS One.* 2013 Dec; 8 (12): e82949.
10. Baulier E, Favreau F, Le Corf A, Jayle C, Schneider F, Goujon JM et al. Amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells prevent fibrosis and preserve renal function in a preclinical porcine model of kidney transplantation. *Stem Cells Transpl. Med.* 2014 Jul; 3 (7): 809–820.
11. Tan J, Wu W, Xu X, Liao L, Zheng F, Messinger S et al. Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2012 Mar; 307 (11): 1169–1177.
12. Lee H, Park JB, Lee S, Baek S, Kim H, Kim SJ. Intraosseous injection of donor mesenchymal stem cell (MSC) into the bone marrow in living donor kidney transplantation; pilot study. *J. Transpl. Med.* 2013 Apr; 11: 96.
13. Peng Y, Ke M, Xu L, Liu L, Chen X, Xia W et al. Donor-derived mesenchymal stem cells combined with low-dose tacrolimus prevent acute rejection after renal transplantation: a clinical pilot study. *Transplantation.* 2013 Jan; 95 (1): 161–168.
14. Perico N, Casiraghi F, Gotti E, Inrona M, Todeschini M, Cavinato RA et al. Mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: pretransplant infusion protects from graft dysfunction while fostering immunoregulation. *Transpl. Int.* 2013 Sep; 26 (9): 867–878.
15. Franquesa M, Hoogduijn MI, Baan CC. The impact of mesenchymal stem cell therapy in transplant rejection and tolerans. *Curr Opin Organ Transplant.* 2012 Aug; 17 (4): 355–361.
16. Casiraghi F, Perico N, Remuzzi G. Mesenchymal stromal cells to promote solid organ transplantation tolerans. *Curr Opin Organ Transplant.* 2013 Feb; 18 (1): 51–58.
17. Ананич ИВ, Дерхо МА, Концевая СЮ. Биохимические показатели крови у крыс. *Успехи современного естествознания.* 2013; 9: 29. Ananich IV, Derho MA, Kontsevaya SJu. Biochemical indices of rat blood. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya.* 2013; 9: 29.
18. Люндуп АВ. Применение мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для коррекции фиброзирующего повреждения печени: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2011: 26. Lyundup AV. Primene-nie mezenhimal'nyh stromal'nyh kletok kostnogo mozga dlja korrekcii fibrozirujushchego povrezhdenija pecheni: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. M., 2011: 26.

Статья поступила в редакцию 30.06.2015 г.  
The article was submitted to the journal on 30.06.2015