

DOI: 10.15825/1995-1191-2016-1-45-52

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА НА РАЗВИТИЕ ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОЧКЕ

Н.А. Онищенко¹, С.С. Мещерин¹, И.М. Ильинский^{1, 2}, В.И. Севастьянов¹

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

² Кафедра трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

Цель исследования: на модели аутотрансплантации почки (АТП) изучить влияние различных доз аутологичных МСК КМ на развитие хронической трансплантационной нефропатии в децентрализованной почке. **Материалы и методы.** На 105 крысах породы Вистар выполнено 5 групп экспериментов. В I, II и III группах была создана модель аутотрансплантации единственной почки путем ее хирургической децентрализации (денервация – делимфатизация) и индукции воспаления почечным аутоантигеном и адьювантом Фрейнда. I группа служила контролем децентрализации (контроль 1). Во II и III группах через 35–40 суток после операции внутривенно однократно вводили аутологичные МСК КМ: во II группе – высокую дозу ($3,0-5,0 \times 10^6$ клеток), а в III группе – низкую дозу ($0,3-0,5 \times 10^6$ клеток). IV группа – интактный контроль; V группа – интактный контроль + МСК КМ в той же дозе, как во II группе. В течение 3, 5 и 7–10 месяцев контролировали выделительную функцию почек (диурез, креатинин, мочевины, белок в крови и моче, экскреция натрия) и их морфологическое состояние. **Результаты.** Во всех 5 группах животных в исследуемых сроках эксперимента азотовыделительная функция почек не была нарушенной. При введении высоких доз МСК КМ после моделирования АТП, начиная с 3 мес., у всех крыс наблюдали резко выраженную протеинурию (в 3–3,5 раза больше, чем в I группе) и постепенное снижение диуреза; гистологически определялась выраженная очаговая клеточная инфильтрация, скопление белковых масс в просвете клубочков и канальцев. К 10-му месяцу развивался очаговый тубулоинтерстициальный склероз и склероз клубочков. При введении низких доз МСК КМ после моделирования АТП, начиная с 3 мес., протеинурия постепенно снижалась, достигая исходных значений к 5 и 7 мес. наблюдения; гистологически выявлялись редкие очаги клеточной инфильтрации вокруг клубочков. **Заключение.** Малые дозы МСК КМ при однократном применении способны оказать защитное десенсибилизирующее воздействие на ткань децентрализованной почки и пролонгировать сроки нормального функционирования почки без признаков выраженной деструкции, тогда как при тех же условиях высокие дозы аутологичных МСК КМ приводят к ускоренному развитию симптомов хронической трансплантационной нефропатии.

Ключевые слова: аутотрансплантация почки, моделирование децентрализации почки, хроническая трансплантационная нефропатия, МСК костного мозга.

INFLUENCE OF BONE MARROW MSCs ON THE DEVELOPMENT OF POSTTRANSPLANT CHANGES IN KIDNES

N.A. Onishchenko¹, S.S. Meshcherin¹, I.M. Ilyinsky^{1, 2}, V.I. Sevastianov¹

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

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Department of transplantology and artificial organs, Moscow, Russian Federation

Aim: to study of influence of various doses of autologous BM MSCs on the development of chronic transplant nephropathy in a decentralized kidney using kidney autotransplantation model (KAT). **Materials and methods.**

Для корреспонденции: Мещерин Сергей Сергеевич. Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. +7-963-644-96-36. E-mail: ssergeevi4@mail.ru.

For correspondence: Meshcherin Sergey Sergeevich. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. +7-963-644-96-36. E-mail: ssergeevi4@mail.ru.

Five groups of experiments were performed on 105 Wistar rats. The model of kidney autotransplantation by means of surgical decentralization (denervation – delymphatization) and inflammation induction with kidney antigen and Freund's adjuvant was created in groups I, II and III. Group I served as a decentralization control (control 1). In groups II and III autologous BM MSCs were injected intravenously once 35–40 days after surgery – a high dose in group II: $3.0\text{--}5.0 \times 10^6$ cells; a low dose in group III: $0.3\text{--}0.5 \times 10^6$ cells; group IV served as intact control; group V served as intact control with the injection of the same dose of BM MSCs as in group II. Kidney excretory functions (diuresis, creatinine, urea, protein in blood and urine, sodium excretion) and morphology were examined during months 3, 5 and 7–10. **Results.** In all five groups over the study duration nitrogen excretion was not disrupted. High doses of BM MSCs after KAT modeling resulted after month 3 in pronounced proteinuria in all rats (3–3.5 times more than in group I) and gradually decreased diuresis; histologically severe focal cell infiltration and the accumulation of protein masses in lumina of glomeruli and tubules were observed. By month 10 glomerular and tubulointerstitial focal sclerosis was developed. Low doses of BM MSCs after KAT modeling led to gradual decrease of proteinuria after month 3 reaching the initial values by months 5 and 7 of observation; histologically rare foci of cellular infiltration around glomeruli were observed. **Conclusion.** A single application of low doses of BM MSCs is capable of protective desensitizing influence on the tissue of decentralized kidney and can prolong the duration of kidney function without signs of pronounced damage, while under the same conditions high doses of autologous BM MSCs lead to accelerated development of severe chronic transplant nephropathy.

Key words: kidney autotransplantation, kidney decentralization modeling, chronic transplant nephropathy, bone marrow MSCs.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация почки во всем мире признана оптимальным и единственно радикальным методом лечения терминальной хронической почечной недостаточности. Между тем численность реципиентов с длительно функционирующими трансплантатами (10 лет и более) во всем мире до сих пор остается чрезвычайно низкой [1].

Установлено, что обязательным морфологическим признаком хронической трансплантационной нефропатии (ХТН) и основной причиной отдаленных потерь почечного трансплантата являются тубулоинтерстициальный склероз (ТИС) и атрофия канальцев. К наиболее специфичному, хотя и непостоянному признаку относят также хроническую трансплантационную гломерулопатию (ХТГ) [2].

По-видимому, на отдаленных сроках после аллотрансплантации на почку продолжают действовать два фактора: гистонесовместимость трансплантата и децентрализация (денервация – делимфатизация) почечного трансплантата, что способствует появлению признаков ХТН и сенсibiliзирует трансплантат к повреждению при воздействии на него как специфических, так и неспецифических факторов [3].

Проведенные нами ранее эксперименты с децентрализацией единственной почки у мышей показали, что в организме длительно (на протяжении 10 месяцев) поддерживается и периодически активизируется реакция иммунного воспаления в ответ на развитие в почке медленно прогрессирующего нейродистрофического процесса [4]. Имеющиеся в литературе данные о важной роли фактора децентрализации в развитии неспецифического иммунного воспаления почек, нарушений метаболизма

и отдельных ренальных функций (снижение АТФ, снижение канальцевой реабсорбции натрия) [5] не позволяют, однако, ответить на вопрос о вкладе децентрализации в процесс морфологических изменений почек на отдаленных сроках после трансплантации.

В последние годы стали интенсивно изучать возможность использования мезенхимальных стволовых клеток (МСК) аутологичного костного мозга (КМ) для модуляции иммунного ответа и предотвращения развития деструктивных изменений в трансплантированных почках [6, 7], в том числе их фиброзирования [8, 9]. Использовали две концентрации аутологичных МСК КМ крыс: высокую ($3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток) – для индукции репаративной регенерации почек при их остром или хроническом повреждении без нарушения их нейроиммуногуморальной регуляции [10, 11]; низкую ($0,3\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток) – для регуляторного воздействия на местном (тканевом и метаболическом) уровне [9]. Однако исследований влияния МСК КМ на функционально-морфологическое состояние почек на модели ауто-трансплантации, когда действует лишь один фактор – децентрализация почки, выполнено не было.

Цель работы состоит в изучении на модели ауто-трансплантации почки влияния различных доз аутологичных МСК КМ на развитие хронической трансплантационной нефропатии в децентрализованной почке.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 105 крысах-самцах породы Вистар с исходной массой 120–160 г, содержащихся в виварии ФГБУ «ФНЦТИО им. ака-

демика В.И. Шумакова» Минздрава России на смешанном рационе питания со свободным доступом к воде при температуре 18–20 °С. Эксперименты на животных проводились с учетом этических принципов гуманного использования животных в экспериментах.

Было выполнено 5 групп хронических экспериментов. В трех группах (по 25 крыс в каждой) была создана модель аутотрансплантации единственной почки путем ее хирургической децентрализации (денервация – делимфатизация) и индукции воспаления почечным аутоантигеном и адьювантом Фрейнда. I группа служила контролем децентрализации (контроль 1). Во II и III группах через 35–40 суток после операции внутривенно однократно вводили аутологичные МСК КМ: во II группе – $3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток, а в III группе – $0,3\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток. IV группу (n = 15) составили интактные животные (контроль 2); в V группе (n = 15) интактным животным внутривенно однократно вводили МСК КМ, как и во II группе, в большой дозе – $3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток, контроль 3.

Моделирование аутотрансплантации почки (АТП) включало 2 этапа.

Этап 1. Под эфирным наркозом в положении на спине выполняли срединную лапаротомию, левостороннюю нефрэктомию. Затем приступали к децентрализации правой почки. Для этого правую почку выделяли из забрюшинных тканей, тупым и острым путем выполняли прецизионную диссекцию нервных и лимфатических путей в области ворот почки и примыкающих к воротам тканей почки. Диссекция нервных и лимфатических путей при этом достигалась не только путем хирургического разрушения и удаления адвентиции и клетчатки, окутывающих почечную артерию, вену и мочеточник в области ворот почки. Проводили также частичное удаление капсулы почки в области ворот и до зоны, включающей ее полюса в радиусе 7–10 мм. Такая хирургическая техника повышает надежность хирургической денервации и делимфатизации почки, так как дополнительно прерываются все макроскопически видимые и невидимые нервные лимфатические пути без применения электрокоагуляционного выжигания клетчатки и лимфатических путей в области ворот почки и на ее поверхности (рис. 1).

Этап 2. Спустя 7–10 суток после моделирования АТП проводили иммунизацию животного путем 3-кратного введения водно-солевого почечного аутоантигена. Для этого готовили экстракт из целой удаленной левой почки животного в 3–4 мл физиологического раствора, смешивали с неполным адьювантом Фрейнда в отношении 1:1. Экстракт делили на три порции и вводили в подкожную клетчатку четырех лапок трехкратно через каждые 7–10 дней

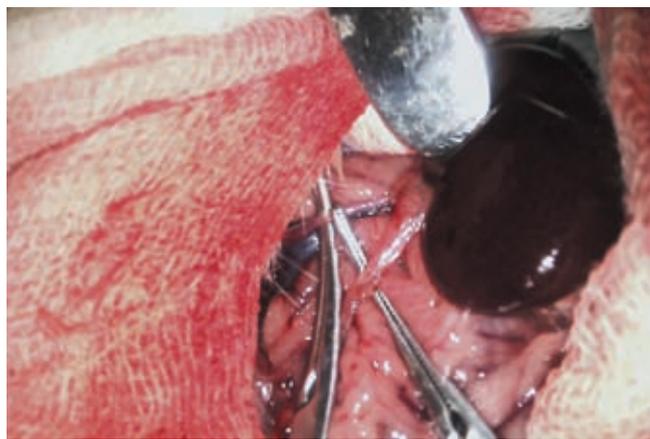


Рис. 1. Этап операции децентрализации (денервации – делимфатизации) почки

Fig. 1. Surgery of kidney decentralization stage (denervation – delymphatisation)

(по 1,8–2,0 мл смеси водно-солевого раствора антигена с адьювантом Фрейнда в отношении 1:1 с суммарным содержанием белка 35 мг/мл). После подкожного введения раствора почечного антигена и адьюванта Фрейнда место инъекции в течение 30 секунд умеренно прижимали антисептическим спиртовым шариком с целью исключения обратного тока жидкости, после чего обрабатывали раствором повидон-йода. Иммунизацию проводили с целью активации иммунного ответа на децентрализацию.

Через 7–10 суток после завершения иммунизации, или через 35–40 суток после моделирования АТП, под эфирным наркозом внутривенно (в хвостовую вену) вводили заранее выделенные культивированные МСК аутологичного КМ в количестве $3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток (II группа и V группа) или $0,3\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток (III группа) в 1 мл физиологического раствора. Заготовку аутологичного костного мозга проводили за 1 неделю до хирургического моделирования АТП под эфирным наркозом из костномозгового канала двух бедренных костей. Очистку и получение культуры МСК КМ осуществляли по стандартной методике [12].

На сроках 3, 5, 7 и 10 месяцев после моделирования АТП в I, II и III группах опытов, а также в IV и V группах измеряли суточный диурез, рассчитывали экскрецию натрия с мочой, определяли содержание белка в суточной моче по Лоури, а также содержание креатинина и мочевины в плазме крови общепринятыми лабораторными методами.

Кроме того, проводили морфологические исследования ткани почек. Для этого ткань почек разрезали на кусочки размером $3 \times 4 \times 5$ мм, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, затем заливали в парафин по общепринятой методике. Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Статистическую обработку результатов биохимических исследований производили на персональном компьютере с использованием специального статистического пакета Biostat. Достоверность различий в сравниваемых группах оценивали по t-критерию Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. М – среднее значение; m – ошибка среднего значения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования некоторых показателей функции почек в I (контроль 1), II, III, IV (контроль 2) и V (контроль 3) группах экспериментов на сроках 1–7 месяцев представлены в таблице.

Из таблицы следует, что децентрализованные почки в I, II и III группах на протяжении 7 месяцев сохраняют свою основную гомеостатическую функцию – выведение азотистых шлаков из организма (уровень креатинина и мочевины в крови поддерживается в пределах нормальных значений). Между тем некоторые канальцевые функции почек

I и II групп по сравнению с исходными значениями и IV группой (контроль 2) были нарушены: повышена экскреция натрия с мочой, причем во II группе на фоне индукции регенераторных процессов высокими дозами МСК КМ она была повышена в достоверно большей степени (в 1,5–2 раза), чем в I группе, где было выполнено только моделирование АТП.

Примечательно, что в I группе, но особенно во II группе, при введении аутологичных МСК КМ в высоких дозах после моделирования АТП на всех сроках наблюдения имела место прогрессирующая протеинурия.

Особенно выражена она была во II группе наблюдений, где к 7 и 10 месяцам достигала значений $12,6 \pm 2,4$ и $15,1 \pm 1,4$ мг/сут на 100 г массы животного соответственно. В III группе при введении аутологичных МСК КМ в малых дозах экскреция белка с мочой вначале была не намного, но достоверно выше по сравнению с исходными фоновыми значениями. В IV группе (интактные животные,

Таблица

Некоторые показатели выделительной функции почек после моделирования аутотрансплантации почки в разных экспериментальных группах (М ± m)

The values of renal excretory function after kidney transplantation modeling in different experimental groups (M ± m)

Показатели	Группы	Исходные значения	Сроки наблюдения (месяцы)			
			1	3	5	7
Диурез, мл/сут/100 г	I (контроль 1)	2,2 ± 0,15	3,75 ± 0,7 ^{x)}	2,7 ± 0,1	2,4 ± 0,35	2,0 ± 0,3
	II		3,8 ± 0,2 ^{x), o)}	3,7 ± 0,2 ^{x)}	2,05 ± 0,2	1,76 ± 0,2 ^{x)}
	III		3,6 ± 0,25	2,4 ± 0,17	2,35 ± 0,2	2,25 ± 0,1
	IV (контроль 2)		2,3 ± 0,3	2,5 ± 0,1	2,4 ± 0,2	2,5 ± 0,1
	V (контроль 3)		2,45 ± 0,2	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,2	2,2 ± 0,1
Экскреция натрия с мочой, ммоль/сут/100 г	I (контроль 1)	0,15 ± 0,05	0,29 ± 0,01 ^{x)}	0,30 ± 0,02 ^{x)}	0,29 ± 0,05 ^{x)}	0,29 ± 0,02 ^{x)}
	II		0,26 ± 0,07 ^{x)}	0,40 ± 0,04 ^{x), o)}	0,41 ± 0,05 ^{x), o)}	0,41 ± 0,05 ^{x), o)}
	III		0,24 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,21 ± 0,03	0,19 ± 0,03
	IV (контроль 2)		0,16 ± 0,05	0,16 ± 0,03	0,16 ± 0,02	0,18 ± 0,04
	V (контроль 3)		0,17 ± 0,05	0,16 ± 0,07	0,16 ± 0,02	0,15 ± 0,08
Экскреция белка с мочой, мг/сут/100 г	I (контроль 1)	0,5 ± 0,4	1,7 ± 0,3 ^{x)}	2,2 ± 0,7 ^{x)}	3,2 ± 0,2 ^{x)}	3,6 ± 0,5 ^{x)}
	II		1,6 ± 0,05 ^{x), o)}	7,2 ± 0,1 ^{x), o)}	10,3 ± 2,7 ^{x), o)}	12,6 ± 2,4 ^{x), o)}
	III		1,8 ± 0,2 ^{x)}	2,0 ± 0,2 ^{x)}	1,25 ± 0,3 ^{o)}	1,06 ± 0,2 ^{o)}
	IV (контроль 2)		0,7 ± 0,3	0,6 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,3
	V (контроль 3)		–	–	–	–
Креатинин крови, мкмоль/л	I (контроль 1)	59,2 ± 9,2	59,3 ± 7,4	54,6 ± 8,8	57,4 ± 11,7	59,8 ± 15,0
	II		52,7 ± 10,2	57,7 ± 12,3	54,2 ± 8,4	55,8 ± 18,3
	III		58,8 ± 12,2	55,0 ± 10,4	52,3 ± 10,3	57,4 ± 15,4
	IV (контроль 2)		56,4 ± 10,4	58,0 ± 8,9	58,7 ± 11,2	52,7 ± 10,1
	V (контроль 3)		58,7 ± 12,3	55,4 ± 11,4	59,7 ± 10,2	66,7 ± 10,2
Мочевина крови, ммоль/л	I (контроль 1)	8,7 ± 2,4	10,7 ± 2,1	7,6 ± 1,8	10,6 ± 3,1	8,9 ± 2,7
	II		7,8 ± 3,1	8,2 ± 2,2	7,8 ± 2,4	7,8 ± 2,1
	III		7,4 ± 2,5	7,6 ± 3,0	7,7 ± 2,7	7,7 ± 2,0
	IV (контроль 2)		9,7 ± 2,4	8,3 ± 2,1	9,5 ± 1,8	9,2 ± 1,43
	V (контроль 3)		10,8 ± 3,0	9,2 ± 3,1	9,5 ± 3,4	10,1 ± 3,1

Примечание. ^{x)} – $p < 0,05$ по сравнению с исходным значением показателя; ^{o)} – $p < 0,05$ по сравнению с контролем 1 на том же сроке исследования.

контроль 2) выраженных отклонений от исходного уровня обнаружено не было, а в V группе (контроль 3) белок в моче вообще не был обнаружен.

На рис. 2, а–в, представлена динамика морфологических изменений в почках после моделирования АТП путем их децентрализации (I группа). Видно, что операция децентрализации сама по себе приводит к очаговым структурным изменениям почек по сравнению с интактным контролем (IV группа) (рис. 2, г).

В почках после моделирования АТП, но без введения МСК КМ (группа I) на всех сроках эксперимента отмечается незначительно выраженное полнокровие капиллярных петель и повышенная инфильтрация части клубочков лимфоцитами и полиморфно-ядерными лейкоцитами (рис. 2, а, б). Эпителий извитых канальцев в состоянии белковой дистрофии (рис. 2, в); отмечаются очаговые пери-

тубулярные и перигломерулярные лимфоцитарные инфильтраты.

Между тем во II группе, где наряду с моделированием АТП проводилось однократное внутривенное введение аутологичных МСК КМ в высоких дозах, морфологические признаки тубулоинтерстициальной нефропатии становились отчетливо выраженными (рис. 3).

На представленных микрофотографиях видно, что клубочки одинакового размера. В отдельных клубочках отмечаются клетки воспалительного инфильтрата (лимфоциты, полиморфно-ядерные лейкоциты). Эпителий извитых канальцев в корковом слое (рис. 3, а) и собирательных трубочек в мозговом слое на всех сроках эксперимента в состоянии белковой дистрофии. Часть клубочков и канальцев расширена, выстлана уплощенным эпителием и заполнена гомогенной белковой эозинофильной жидкостью (рис. 3).

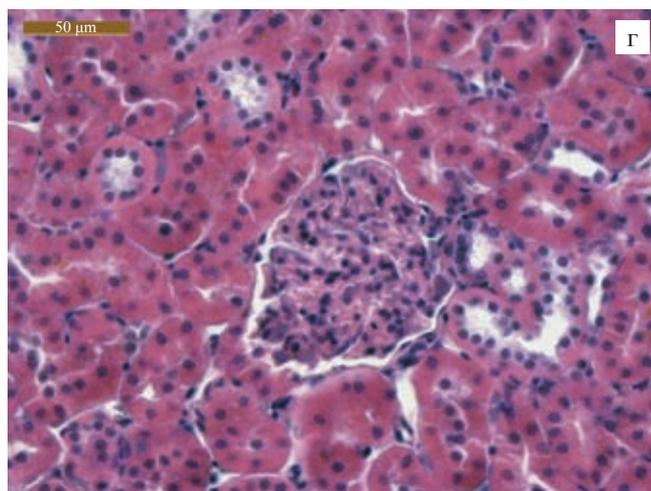
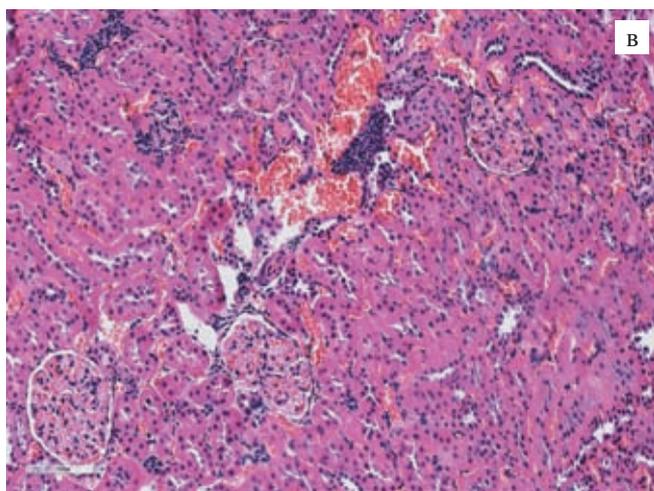
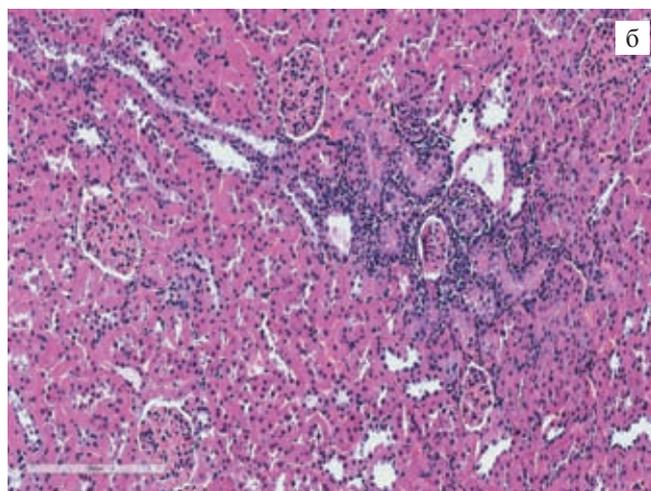
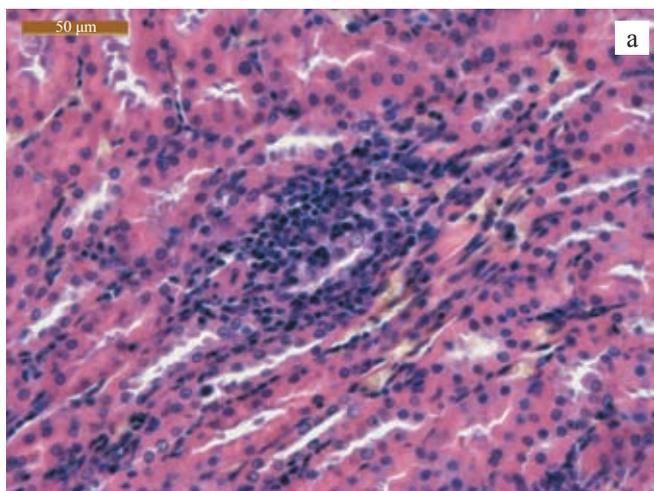


Рис. 2. Динамика морфологических изменений в почке при моделировании АТП путем ее децентрализации (денервация – делимфатизация) и индукции воспаления (почечный аутоантиген + адьювант Фрейнда по схеме), I группа опытов. Окраска гематоксилином и эозином: а – через 3 мес., $\times 400$; б – через 5 мес., $\times 100$; в – через 7 мес., $\times 200$; г – через 7 мес. – интактная почка (группа IV), $\times 400$

Fig. 2. Morphological changes in kidney after IRI modeling by decentralization (denervation – delymphatisation) and inflammation induction (kidney autoantigen and Freund's adjuvant by scheme). Haemotoxyline and eosine: а – after 3 months, $\times 400$; б – after 5 months, $\times 100$; в – after 7 months, $\times 200$; г – normal kidney after 7 months, $\times 400$

Количество таких канальцев и собирательных трубочек увеличивается по мере увеличения сроков наблюдения: канальцы дилатированы, заполнены белковыми массами (по-видимому, типа белка Тама–Хорсфилла) (рис. 4, а–в).

Отмечаются также умеренно выраженные перитубулярные, перигломерулярные лимфоцитарные инфильтраты, что позволяет рассматривать их как проявление мембранозной гломерулопатии с признаками очагового тубулоинтерстициального склероза (рис. 4, в) и развивающегося склероза клубочков (рис. 4, г).

Таким образом, одноразовое введение высоких доз аутологичных МСК КМ после моделирования АТП при отсутствии фактора гистонесовместимости может индуцировать в почке изменения, типичные для аллогенной трансплантации на отдаленных сроках, которые возникают в клинике при длительном применении иммуносупрессивных препаратов или воздействии на почку других факторов, не связанных с иммуносупрессией [2].

При введении малых доз аутологичных МСК КМ ($0,3–0,5 \times 10^6$ клеток) после моделирования АТП (III группа) на всех исследуемых сроках (вплоть до 7 месяцев) деструктивные изменения почечной

ткани либо отсутствовали, либо встречались отдельные (редкие) очаги клеточной инфильтрации (рис. 5, а, б), без выраженных изменений функционального состояния почек (см. таблицу, III группа).

Полученные данные о позитивном влиянии малых доз МСК КМ на морфофункциональные показатели почки на отдаленных сроках после моделирования АТП находятся в соответствии с результатами, представленными в работе [7]. После пересадки почки, иммуносупрессии и введения крысам аутологичных МСК КМ в той же дозе и в аналогичные сроки авторы в течение 6 мес. наблюдали устранение протеинурии и лишь минимальные проявления интерстициального фиброза, атрофии канальцев и клеточной инфильтрации, что, по их мнению, являлось следствием иммуно- и геномодуляции, а также ингибирования введенными МСК КМ повреждения клеток.

Результаты клинко-морфологического исследования вклада фактора децентрализации в картину хронической трансплантационной нефропатии показывают, что децентрализация почки является фактором, резко сенсибилизирующим ткань почки к токсическому повреждению. При длительном применении препаратов (например, иммуносупрес-

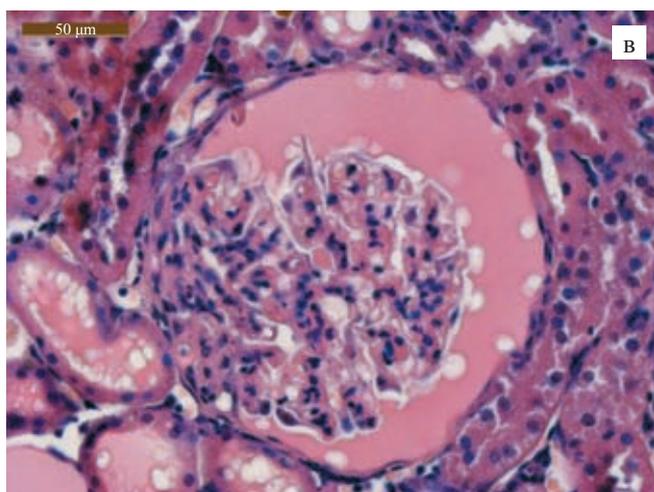
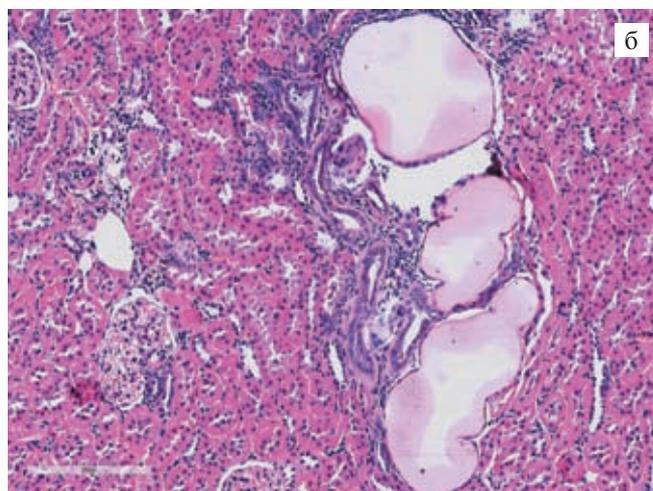
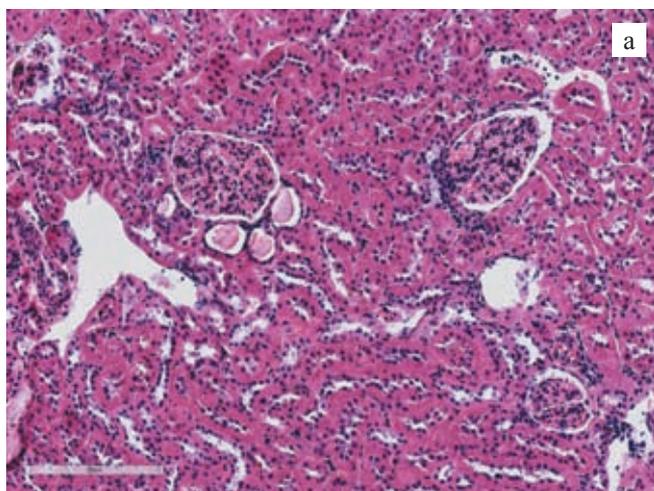


Рис. 3. Морфологические изменения в почках после моделирования АТП и однократного введения МСК КМ в дозе $3,0–5,0 \times 10^6$ клеток. Окраска гематоксилином и эозином: а – через 3 мес., $\times 100$; б – через 5 мес., $\times 400$; в – через 7 мес., $\times 400$

Fig. 3. Morphology of kidneys after IRI and single $3.0–5.0 \times 10^6$ cells MSC's BM admission. Haematoxyline and eosine: а – after 3 months, $\times 100$; б – after 5 months, $\times 400$; в – after 7 months, $\times 400$

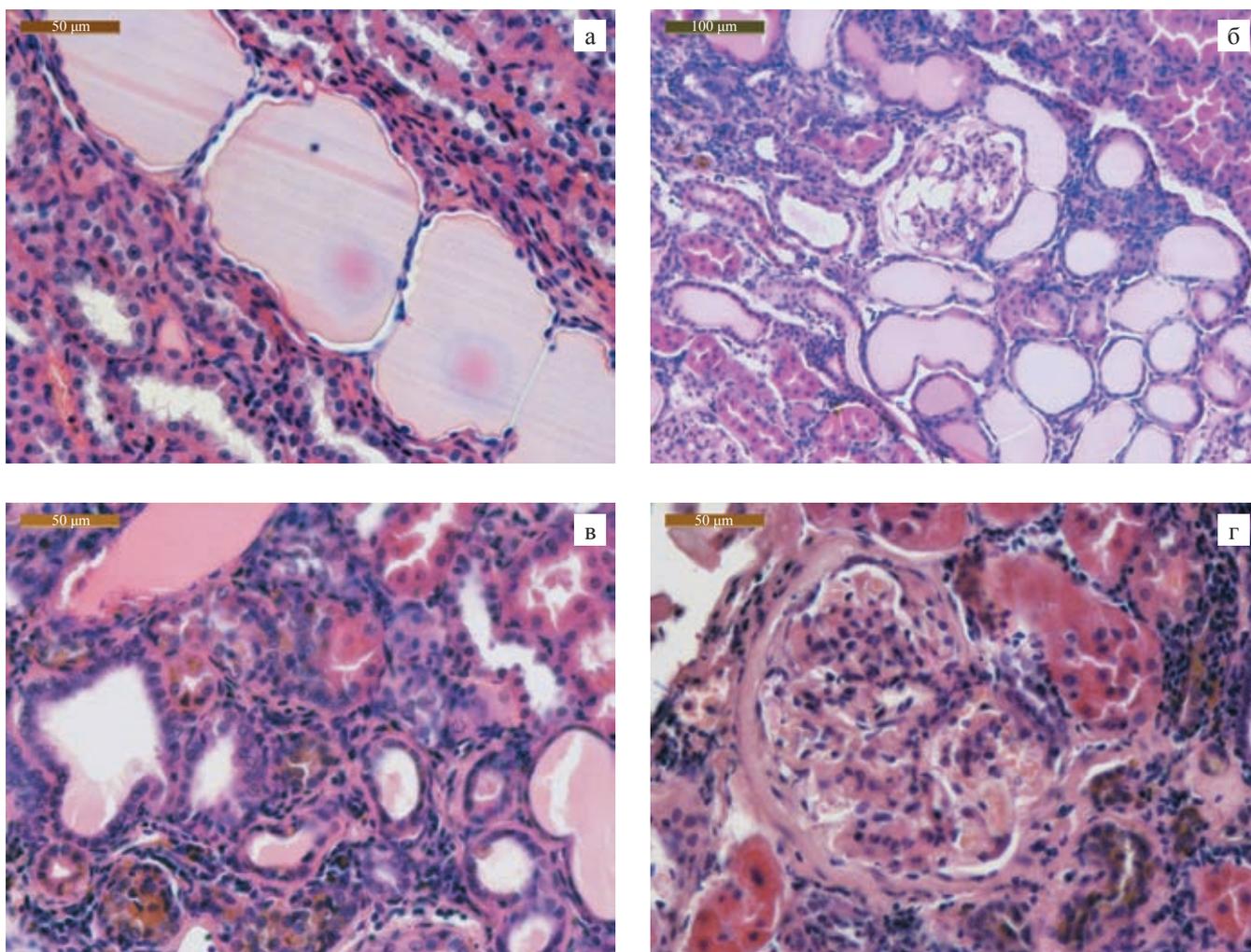


Рис. 4. Морфологическое состояние почек через 10 месяцев после моделирования АТП и однократного введения МСК КМ в дозе $3,0\text{--}5,0 \times 10^6$ клеток. Окраска гематоксилином и эозином: а – каналцы дилатированы, заполнены белковыми массами в виде кист, $\times 400$; б – «щитовидная почка», $\times 200$; в – клеточная инфильтрация, $\times 400$; г – склероз клубочков, $\times 400$

Fig. 4. Morphology of kidneys after 10 months of IRI and single $3.0\text{--}5.0 \times 10^6$ cells MSC's BM admission. Haemotoxylene and eosine: а – protein containing and dilatation of canalculies, $\times 400$; б – «thyreoid kidney», $\times 200$; в – cellular infiltration, $\times 400$; г – glomerulosclerosis, $\times 200$

соров), даже в терапевтически допустимых дозах, децентрализация почки становится фактором ее ускоренного токсического повреждения, сокращающего сроки функционирования трансплантата. Примечательно, что вышеописанные морфологические изменения, возникшие в децентрализованной почке после применения МСК КМ в большой терапевтической дозе, соответствуют именно тем токсическим изменениям в этом органе, которые наступают при хроническом отравлении организма солями тяжелых металлов [13].

Малые дозы МСК КМ, как показали наши исследования, способны оказать защитное десенсибилизирующее воздействие на ткань децентрализованной почки и пролонгировать сроки нормального функционирования почки без признаков выраженной деструкции.

ВЫВОДЫ

1. Децентрализация почки (денервация – делимфатизация и сопутствующее воспаление) сенсibiliзирует ее ткань, снижает порог токсического повреждения при действии неспецифических факторов и становится одним из ведущих механизмов развития хронической трансплантационной нефропатии.
2. Однократное применение высоких доз аутологичных МСК КМ при децентрализации почки становится фактором ускоренного развития симптомов хронической трансплантационной нефропатии.
3. Низкие дозы аутологичных МСК КМ при однократном применении способны оказать десенсибилизирующее воздействие на ткань децентрализованной почки и затормозить развитие

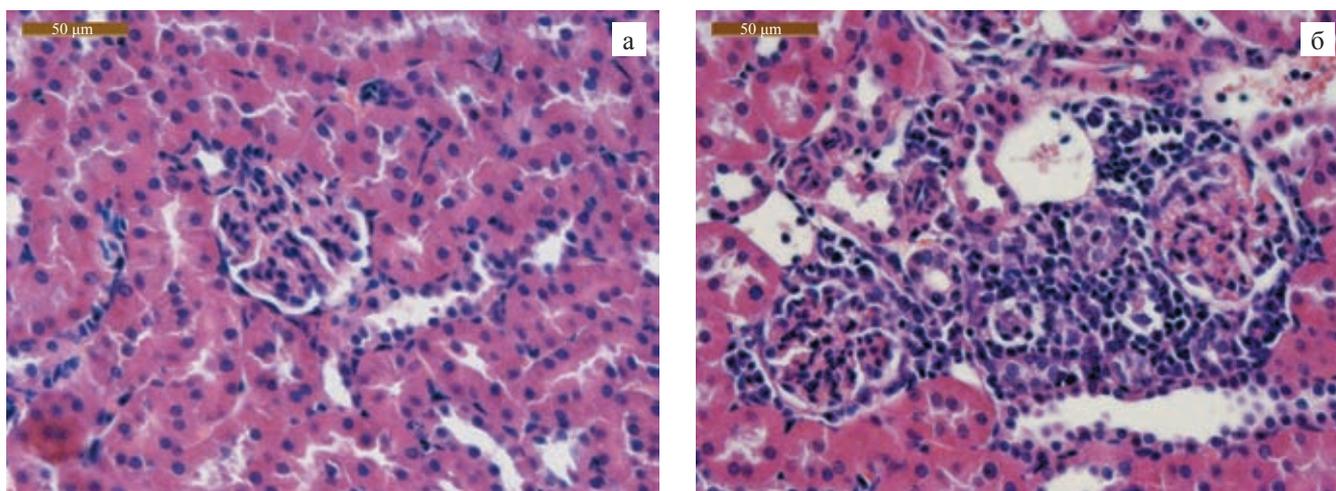


Рис. 5. Морфологическое состояние почек через 7 месяцев после моделирования АТП и однократного введения МСК КМ в дозе $0,3-0,5 \times 10^6$ клеток. Окраска гематоксилином и эозином: а – нормальная структура почечной ткани, $\times 400$; б – отдельные очаги клеточной инфильтрации, $\times 400$

Fig. 5. Morphology of kidneys after 7 months of IRI and single $0.3-0.5 \times 10^6$ cells MSC's BM admission. Haematoxyline and eosine: а – normal kidney structure, $\times 400$; б – single areas of cellular infiltration, $\times 400$

проявлений хронической трансплантационной нефропатии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14-25-00055).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sayegh MH, Carpenter CB. Transplantation 50 years later – progress, challenges and promises. 2004. *The New England Journal of Medicine.*, 2004, 26; 351: 2761–2766. Phillip Scott, 2005.
2. Hariharan S, Adams MB, Brennan DS. et al. Recurrent and de novo glomerular disease after renal transplantation. *Transplantation.* 1999; 68 (5): 635–641.
3. Кирпатовский ИД, Быкова НА. Пересадка почки (экспериментальные и биологические основы). М.: Медицина, 1969. Kirpatovskij ID, Bykova NA. Kidney transplantation (experimental and biological bases). М.: Medicine, 1969.
4. Шумаков ВИ, Онищенко НА. Физиология изолированных и частично изолированных органов. *Очерки по физиологическим проблемам трансплантологии и применения искусственных органов.* Под ред. ВИ. Шумакова. Тула: Репроникс ЛТД, 1998; 119–151. Shumakov VI, Onischenko NA. Physiology of the isolated and particulate isolated organs. *Essays on physiological problems of transplantology and application of artificial organs*, editing of VI. Shumakov. Tula: Repronics LTD, 1998. 119–151.
5. Волкова ОВ. Нейродистрофический процесс (морфологические процессы). М.: Медицина, 1978; 256. Volkova OV. Neurodystrophical process (morphological processes). М.: Medicine, 1978; 256.
6. Casiraghi F, Perico N, Remuzzi G. Mesenchymal stromal cell to promote solid organ transplantation tolerance. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2013; 18 (1): 51–58.
7. Perico N, Casiraghi F, Gotti E. et al. Mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: pretransplant infusion protects from graft dysfunction while fostering immunoregulation. *Transpl. Int.* 2013; 26 (9): 867–878.
8. Franquesa M, Hooduijn MI, Baan CC. The impact of mesenchymal stem cell therapy in transplant rejection and tolerance. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2012; 17 (4): 355–361.
9. Franquesa M, Herrero E, Torras J. et al. Mesenchymal stem cell therapy prevents interstitial fibrosis and tubular atrophy in a rat kidney allograft model. *Stem cells Dev.* 2012; 21 (17): 3125–3135.
10. Кирпатовский ВИ, Казаченко АВ, Надточин ОН. Перспективы использования стволовых клеток в лечении острой и хронической почечной недостаточности. *Урология.* 2007; 6: 27–32. Kirpatovsky VI, Kazachenko AV, Nadtochin ON. Prospects of stem cells using at treatment of acute and chronic renal insufficiency. *Urology.* 2007; 6: 27–32.
11. Rinders MEJ, Fibbe WE, Rabelink TJ. Multipotent mesenchymal stromal cell therapy in renal disease and kidney transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010; 25: 17–24.
12. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J. Orthop. Res.* 1999; 9: 641–650.
13. Митицев АК. Изменение активности перекисного окисления липидов как механизм развития патологии почек при действии тяжелых металлов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2015; 2: 72–76. Mitsiev AK. The changing of lipid peroxide oxidation activity as a mechanism of kidney pathology progress at the action of heavy metals. *Pathological physiology and experimental therapy.* 2015; 2: 72–76.

Статья поступила в редакцию 18.01.2016 г.
The article was submitted to the journal on 18.01.2016