

Теоретична і експериментальна медицина

УДК: 612.015.21.086.13:618.39-018-053.13:616.61:616.74-001.4-092.9

**ВПЛИВ АЛОГЕННОГО КРІОЕКСТРАКТУ ФЕТАЛЬНИХ ТКАНИН
НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК
ПРИ МОДЕЛЮВАННІ М'ЯЗОВИХ ТРАВМ У ЩУРІВ****Репін М.В., Марченко Л.М., Говоруха Т.П., Строна В.І., Юрченко Т.М.***Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України,
Харків, Україна*

Серед причин виникнення ренального Гострого Пошкодження Нирок (ГПН) значне місце займає рабдоміоліз. Фармакологічна корекція ГПН залишається недостатньо розробленою, що обумовлює необхідність пошуку нових підходів до лікування та профілактики, зокрема з використанням біологічно активних сполук фетоплацентарного походження. Досліджено характер структурних змін в тканині нирок та біохімічних показників крові та сечі щурів на моделі рабдоміолізу травматичного походження, а також після введення алогенного КріоЕкстракту Фетальних Тканин (КЕФТ) в якості профілактичного засобу. Контузію моделювали шляхом тупого непроникного удару важкої сталльної кулі по м'язах обох стегон щурів під ін'єкційною анестезією. КЕФТ вводили внутрішньом'язово в дозі 0,5 мл тричі протягом тижня до травмування. Забій тварин та забір матеріалу проводили через 1, 3, 7, 14 діб після травмування. Моделювання м'язових травм шляхом контузії викликало 1,5-разове зростання концентрації креатинкінази, що супроводжувалось розвитком гострого пошкодження нирок, обумовленого рабдоміолізом. Це виражалось в протеїнурії, підвищенні рівня креатиніну крові в 1,5 рази, зменшенні рівня креатиніну сечі та діурезу, падінні швидкості клубочкової фільтрації у 4,5 рази. Профілактичне введення КЕФТ до початку моделювання контузії м'язів сприяло послабленню розвитку ГПН в перші 3 доби та відновленню видільної функції через 7 діб після травмування, але структура тканини нирок нормалізувалась лише через 14 діб.

Ключові слова: рабдоміоліз, гостре пошкодження нирок, структура тканини нирок.

Цитуйте українською: Репін МВ, Марченко ЛМ, Говоруха ТП, Строна ВІ, Юрченко ТМ. Вплив алогенного кріоекстракту фетальних тканин на структурно-функціональний стан нирок при моделюванні м'язових травм у щурів. Експериментальна і клінічна медицина. 2024;93(2):6-18. <https://doi.org/10.35339/ekm.2024.93.2.rmg>

Cite in English: Repin MV, Marchenko LM, Govorukha TP, Strona VI, Yurchenko TM. Impact of allogeneic fetal tissue cryoextract on kidney structure and functions when simulating the muscle injuries in rats. Experimental and Clinical Medicine. 2024;93(2):6-18. <https://doi.org/10.35339/ekm.2024.93.2.rmg> [in Ukrainian].

Відповідальний автор: Репін М.В.
✉ Україна, 61016, м. Харків,
вул. Переяславська, 23.
E-mail: 1nvrepin@gmail.com

Corresponding author: Repin M.V.
✉ Ukraine, 61016, Kharkiv,
Pereiaslavska str., 23.
E-mail: 1nvrepin@gmail.com

Вступ

В умовах масштабних воєнних дій найбільш поширеними причинами смерті є прямі травми, масивні кровотечі, асфіксії, а також ураження органів і систем при краш-синдромі, з яким пов'язане Гостре Пошкодження Нирок (ГПН) в результаті масивного рабдоміолізу [1]. Головними патофізіологічними механізмами ГПН, що виникає при рабдоміолізі, є ренальна вазоконстрикція, утворення внутрішньоканальцевих циліндрів і пряма цитотоксична дія гема. Міоглобін легко фільтрується через базальну мембрану клубочків та акумулюється у ниркових канальцях. Реабсорбція води призводить до ще більшого підвищення концентрації міоглобіну в просвіті канальців, внаслідок чого він починає осідати з утворенням циліндрів, що обтурують канальці [2]. Дегідратація та ниркова вазоконстрикція, однією з причин якої є здатність міоглобіну викликати спазм гладкої мускулатури [3], знижують канальцевий струм рідини та підвищують реабсорбцію води, що ще більше сприяє процесу осадження міоглобіну в просвіті канальців. Альтернативними причинами ГПН при рабдоміолізі можуть бути також гіповолемія, сепсис, нефротоксична дія лікарських засобів та ін. [4; 5]. Для відтворення тяжких м'язових травм та травматичного рабдоміолізу в експерименті використовують різні моделі, в тому числі модель контузії, яка передбачає непроникний удар важкого предмету [5–8]. Такі експериментальні моделі використовують для розробки нових методів лікування. Стан структури тканин та видільної функції нирок у щурів при контузії м'язів дослід-

жений недостатньо, зважаючи на суттєве порушення функції нирок при масивному рабдоміолізі, яке доведено для інших моделей.

Лікування рабдоміолізу в основному полягає в підтримуючій терапії з адекватною гідратацією та в запобіганні розвитку ГПН. Нефропротекторний вплив, реалізований у покращенні екскреторної функції нирок та антиоксидантному ефекті при рабдоміолізіндукованому пошкодженні нирок, встановлений для тіотриазоліну [9], кверцетину [10], мелатоніну [11], органоспецифічних пептидів [12], сірковмісних амінокислот [13; 14] та інших лікарських засобів.

В теперішній час увагу дослідників все більше привертає застосування клітинних та тканинних технологій, терапія стовбуровими клітинами. Ідея регенеративної терапії різних захворювань з використанням стовбурових клітин, а також із застосуванням специфічних факторів росту, які стимулюють вихід стовбурових клітин в периферичний кровотік, широко використовується в наукових дослідженнях. Використання біологічно активних речовин фетоплацентарного походження, які містять регуляторні пептиди, гормони, фактори росту, цитомедіни, може бути перспективним методом впливу на регенераційний потенціал власних стовбурових клітин нирки [15–19]. Зважаючи на вище наведене, необхідним та перспективним представляється проведення подальших досліджень механізмів дії кріоекстрактів тканин фетоплацентарного походження як засобу підвищення регенераційного потенціалу ниркової тканини при гострих пошкодженнях нирок.

Метою дослідження було вивчення характеру структурних змін в тканині нирок та біохімічних показників крові й сечі щурів на моделі рабдоміолізу травматичного походження при контузії м'язів задніх кінцівок, а також після введення аlogenного кріоекстракту фетальних тканин в якості профілактичного заходу.

Матеріал і методи

У роботі використано модель гострого пошкодження нирок, яке індуковано рабдоміолізом травматичного походження. Всі маніпуляції з тваринами проводились відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Матеріалом дослідження були 25 білих безпородних щурів вагою 180–200 г, віком 4 місяці.

Для відтворення травматичного рабдоміолізу ми моделювали м'язову контузію тупого непроникного удару за стандартним протоколом – ударом важкої сталльної кулі діаметром 7 мм по м'язах обох стегон щурів під загальною анестезією внутрішньоперитонеальною ін'єкцією розчину Золетилу 100 (Virbac, Франція) в дозі 0,075 мл на 1 кг маси тіла.

Кріоекстракт з фетальних тканин отримували з гомогенатів внутрішніх органів плодів білих безпородних щурів самиць (n=5) на 18-ту добу вагітності. Після відмивання біоматеріалу від крові ізотонічним розчином NaCl (150 мМ) та подрібнювання в гомогенізаторі отримані гомогенати піддавалися охолодженню до -20°C (зі швидкістю 1–2 град/хв); двократному заморожуванню до -196°C зі швидкістю 200 град/хв, відігріву на водяній бані за температури

37°C після кожного етапу охолодження. Після низькотемпературної обробки гомогенати змішували з ізотонічним розчином NaCl (150 мМ) у співвідношенні 1:2, центрифугували 20 хв при 4500g. Супернатанти збирали і фільтрували крізь мембранний фільтр 0,22 мкм (Millipore Corp. Carrigtwohill, Co. Cork, Ірландія). Для подальшого застосування отримані супернатанти (кріоекстракти) зберігали в рідкому азоті. У профілактичному режимі алогенний КріоЕкстракт Фетальних Тканин (КЕФТ) в дозі 0,5 мл вводили внутрішньом'язово тричі (через день) протягом тижня до травмування тварин. Забір тварин та забір матеріалу проводили через 1, 3, 7, 14 діб після травмування. Контролем були інтактні щури, яким внутрішньом'язово вводився відповідний об'єм фізіологічного розчину.

Тварин всіх груп поміщали в обмінні камери і збирали сечу в умовах спонтанного діурезу після водного навантаження (5 % від маси тіла) протягом 2 годин до забою, в пробах сечі і крові визначали рівень креатиніну, а також вимірювали вміст білка в сечі за допомогою тест-смужок "Uriscan" (YD Diagnostics Corp, Корея). В сироватці крові визначали концентрацію креатинкінази на спектрофотометрі з використанням набору реагентів для визначення загальної активності фермента креатинкіназа-кін. СпЛ (СпайнЛаб, «Лабораторія Гранум», Україна).

Для визначення рівня креатиніну застосовували аналізатор біохімічний напівавтоматичний BTS-350 (Biosistems S.A., Іспанія), з використанням діагностичного набору для фотометричного колориметричного визначення креатиніну кінетичним методом без депротейнізації (Corme, Польща). Для аналізу брали проби по 100 мкл сироватки або сечі (її розводили у 100 разів), довжина хвилі складала 500 нм, температура 25°C .

Розраховували Швидкість Клубочкової Фільтрації (ШКФ) за Ребергом-Тарсєвим [20].

Морфологічне дослідження структурних перебудов нирок проведено з використанням класичних гістологічних методів. Гістологічні препарати були забарвлені гематоксилином і еозином та проаналізовані в оптичному мікроскопі Grapim R-40 (КНР). Фотореєстрацію проводили за допомогою відеокамери UCMOS 03100 КРА (3.1 Мрiх) з адаптером Tourtek photonica FMA 050 ("TourCam", КНР). Цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів використовували для аналізу ряду метричних параметрів, а саме обчислення проценту каналців з розширенням просвіту, наявністю циліндрів в ньому, тубулярного некрозу. Для кожної дослідженої нирки було проаналізовано по 12 кортикальних каналців в 4 різних ділянках. Стан кожного каналця оцінено за системою балів [21]. Найвища сума балів відповідала 6 і складалася з наявності або відсутності таких показників патологічних змін: сплющення епітеліоцитів (1 бал), втрата щіткової облямівки (1 бал), інтерстиціальний набряк (1 бал), вакуолізація цитоплазми епітеліоцитів (1 бал), некроз клітин (1 бал), обструкція просвіту каналця (1 бал).

Площу ниркових клубочків та площу капілярних петель з мезангіумом, а також розміри капсули Шумлянського вимірювали за допомогою програми TourTek TourView 3.7 (Hangzhou, КНР). Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою програми SPSS Statistics 17.0 (IBM, США). Достовірність різниці між показниками оцінювали з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента (при нормальному розподілі) та непараметричного U-критерію Манна-Уїтні (при невідповідності нормальному розподілу).

Результати та їх обговорення

Виживаність тварин з моделлю контузії м'язів складала 100 % протягом 14 діб після травмування.

Результатом токсичної дії міоглобіну, що є центральною патогенетичною ланкою пошкодження нирок при рабдоміолізі, через 24 год після травмування тварин стало порушення каналцевого апарату нирок з розвитком олігоурічної стадії ГПН (табл. 1). Для цього стану було характерне наростання протеїнурії: концентрація білку в сечі щурів зростає у 10 разів у порівнянні з даними групи інтактних тварин. Рівень креатиніну плазми крові зріс у 1,5 рази, а у сечі зменшився у 1,2 рази, діурез також знизився у 2,3 рази. ШКФ зменшилась май-

Таблиця 1. Показники функціонального стану нирок при їх гострому пошкодженні після моделювання контузії м'язів у щурів

Термін спостереження	Показники				
	Діурез за 2 год, мл	Креатинін крові, мкмоль/л	Креатинін сечі, ммоль/л	ШКФ, мл/хв	Креатиніназа крові, Од/л
Контроль	3,28±1,87	46,33±1,63	3,57±0,24	2,11±0,05	231,51±58,30
1 доба	1,41±0,71*	72,25±3,01*	2,91±0,15*	0,47±0,02*	357,22±57,90*
3 доби	1,84±0,75	68,2±5,16*	2,62±0,37*	0,59±0,03*	311,71±108,70
7 діб	1,94±0,98	59,6±2,88*	2,82±0,55	0,76±0,02*	272,42±51,60
14 діб	2,58±1,05	55,4±4,11*	2,88±0,72	1,12±0,05*	229,63±45,31

Примітка: * – вірогідно в порівнянні з групою контролю (p<0,05).

же у 4,5 рази. Треба відзначити, що концентрація креатинкінази також зросла у 1,5 рази у порівнянні з інтактними тваринами.

Через 3 доби після травмування рівень креатиніну крові дещо знизився у порівнянні з попереднім терміном, але залишився в 1,47 рази вище норми. Креатинін сечі зменшився до $(2,62 \pm 0,37)$ ммоль/л. Діурез незначно зріс. Хоча ШКФ незначно збільшилась, але залишилась в 3,5 рази нижче контролю. Протеїнурія спостерігалась і на цей термін розвитку патології: концентрація білку в сечі щурів складала $(48 \pm 19,8)$ мг/100 мл, що у 3 рази перевищувало контроль. Концентрація креатинкінази в плазмі крові знизилась несуттєво і була в 1,35 рази вищою у порівнянні з контролем.

Протягом наступних діб спостереження (у терміни 7 та 14 діб) показники видільної функції нирок щурів поступово поліпшувались, але не досягали рівня інтактних тварин. Концентрація креатинкінази в плазмі крові також поступово зменшувалась, і через 14 діб після травмування нормалізувалась.

Результати морфологічного дослідження структури нирок щурів корелювали з даними біохімічних досліджень. При рабдоміолітичному ГПН основною мішенню токсичного впливу міоглобіну є проксимальні каналці, пошкодження яких призводить до зниження їх реабсорбційної здатності та порушення іонорегулювальної функції нирок [2; 4].

У нирках щурів з контузією м'язів стегна через 1 добу розвитку патології було виявлено явища венозної гіперемії, а також набряк та розширення клубочків, розширення міжканалцевих кровоносних судин. Спостерігався коагуляційний некроз близько 5 % епітеліоцитів звивистих каналців коркової речовини з ущільненням цитоплазми та пікнозом ядер. Для більшості клітин були характерні дегенеративні зміни у вигляді

гідропічної дистрофії (рис. 1, а). У мозковій речовині близько третини клітин були уражені гідропічною дистрофією, постерігались також некротичні зміни епітелію збиральних трубок. Просвіти проксимальних та дистальних каналців та більшості вивідних трубочок були розширені. Міоглобінові циліндри визначались приблизно у 10 % просвітів звивистих каналців та у 15 % вивідних трубочок мозкової речовини (рис. 1, б).

Навколо осередків некрозу каналцевих епітеліоцитів кори спостерігались ділянки лімфоцитарно-макрофагальної інфільтрації інтерстицію (рис. 1, а). Морфометричні дослідження каналцевого епітелію свідчили, що показник патологічних змін складав $(3,92 \pm 0,86)$ бали.

Через 3 доби після контузії м'язів практично не спостерігалось міоглобінових циліндрів в просвітах каналців, але були осередки запалення біля клубочкової локалізації в інтерстиції.

Ниркові клубочки були розширені і містили велику кількість ультрафільтрату. Розширення кровоносних судин та набряк в інтерстиції були характерні як для кори, так і для мозкової речовини нирок. Некротичні зміни епітеліоцитів спостерігались в проксимальних, дистальних каналцях і збиральних трубках. Більше половини епітеліоцитів проксимальних каналців мали ознаки гідропічної дистрофії з вакуолізацією цитоплазми, втратою щіткової облямівки. Просвіти проксимальних і дистальних каналців були розширені. Показник патологічних змін складав $(4,33 \pm 0,72)$ балів.

Через 7 діб після контузії суттєвого поліпшення структури тканин нирки не відбувалось. Ниркові клубочки, а також просвіти проксимальних і особливо дистальних каналців залишались розширеними. В інтерстиції кори та мозкової речовини постерігались осередки інфільтрації, венозна гіперемія і крововиливи (рис. 2, а). Близько 30 % епітеліоцитів

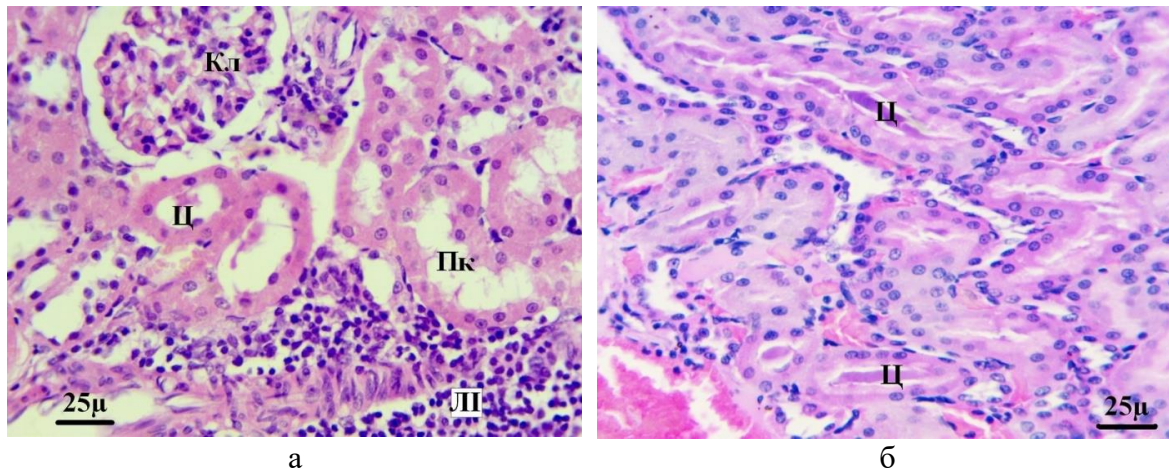


Рис. 1. Морфологічний стан кори (а) та мозкової речовини (б) нирок щурів через 1 добу після контузії м'язів. Забарвлення гематоксилін-еозин.

Примітки: Кл – нирковий клубочок; Пк – проксимальні канальці; Ц – циліндри у просвітах канальців; ЛІ – лімфоцитарно-макрофагальна інфільтрація.

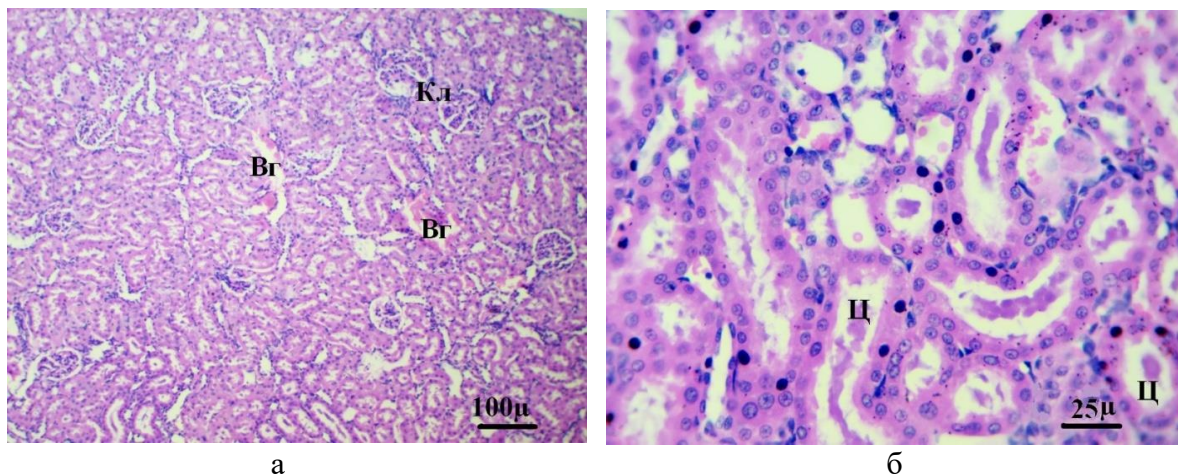


Рис. 2. Венозна гіперемія в корі нирки (а); гідропічна дистрофія епітелію та циліндри у просвітах канальців (б) нирок щурів через 7 днів після контузії м'язів.

Забарвлення гематоксилін-еозин.

Примітки: Кл – клубочки; Вг – венозна гіперемія; Ц – циліндри у канальцях.

проксимальних та дистальних канальців перебували в стані гідропічної дистрофії з втратою щіткової облямівки. Некротичні зміни також охоплювали до 3 % клітин. Просвіти канальців та збиральних трубок містили клітинний детрит та циліндри (рис. 2, б). Показник патологічних змін складав $(4,43 \pm 1,1)$ балів.

Через 14 днів після контузії стан клубочків відповідав нормі з гарним наповненням капілярних петель і достатньою

кількістю ультрафільтрату. В паренхімі були поодинокі крововиливи та невеликі осередки інфільтрації. Просвіти дистальних і частини проксимальних канальців були розширені без обструкції циліндрами. Епітелій зберігав ознаки гідропічної дистрофії та некротичних змін окремих клітин (рис. 3).

Дистрофічні зміни епітеліоцитів мали фокальний характер, показник патологічних змін складав $(2,25 \pm 0,97)$ балів.

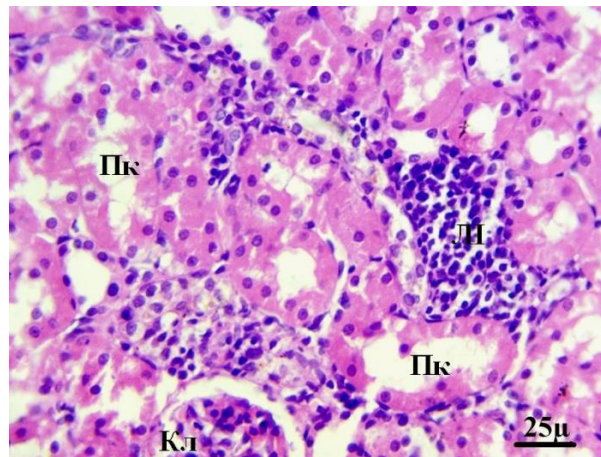


Рис. 3. Гідропічна дистрофія епітелію проксимальних каналців та осередки запалення в корі нирки щура через 14 діб після контузії м'язів. Забарвлення гематоксилін-еозин.

Примітки: Пк – проксимальні каналці; ЛІ – лімфоцитарно-макрофагальна інфільтрація; Кл – клубочок.

На наступному етапі роботи було досліджено вплив превентивного введення КЕФТ на виживаність тварин після травмування контузією, яка склала 100 % протягом 14 діб. Динаміка функціональних показників нирок щурів з моделлю контузії свідчила про розвиток олігуричної стадії ГПН, незважаючи на профілактичне введення КЕФТ (табл. 2). У тварин спостерігалась протеїнурія, але вміст білку в сечі тварин перевищував

контроль лише у 4 рази на 1-шу добу, у 3 рази – на 3-ю добу, і наблизився до норми через 14 діб. Діурез протягом 7 діб незначно зменшувався, нормалізувавшись через 14 діб.

Рівень креатиніну в сироватці крові вірогідно зріс тільки через 1 добу після травмування, перевищивши контроль у 1,3 рази. В подальшому цей показник вірогідно не відрізнявся від контролю, хоча був незначно збільшений. Концент-

Таблиця 2. Показники функціонального стану нирок при моделюванні контузії м'язів у щурів на тлі профілактичного введення кріоекстракту фетальних тканин

Термін спостереження	Показники				
	Діурез за 2 год, мл	Креатинін крові, мкмоль/л	Креатинін сечі, ммоль/л	ШКФ, мл/хв	Креатиніназа крові, Од/л
Контроль	3,28±1,87	46,33±1,63	3,57±0,24	2,11±0,05	231,51±58,30
1 доба	2,16±0,93	61,75±5,68*	3,72±0,66	1,08±0,03*	268,17±76,44
3 доби	2,10±0,35	59,61±4,42	2,62±0,37*	0,77±0,04*	251,33±97,38
7 діб	2,25±0,78	56,22±4,55	2,82±0,55	0,94±0,03*	256,44±36,11
14 діб	2,88±1,05	52,53±1,71	2,99±0,75	1,37±0,05*	242,71±35,42

Примітка: * – вірогідно в порівнянні з групою контролю ($p < 0,05$).

рація креатиніну в сечі вірогідно зменшилась в 1,36 рази лише на 3-ю добу після травмування, та практично нормалізувалась через 7 діб.

Незважаючи на позитивну динаміку рівня креатиніну крові та сечі, ШКФ у тварин з введенням КЕФТ не нормалізувалась навіть до 14 діб, та була вірогідно нижчою, більше ніж у 2 рази в усі терміни спостереження. Треба відзначити, що у щурів з контузією м'язів без профілактичного введення КЕФТ показники видільної функції нирок були помітно гіршими, що може свідчити про позитивний вплив кріоекстракту.

Концентрація креатинкінази в плазмі крові щурів цієї групи підвищилася у 1,16 рази тільки через 1 добу після травмування, в усі інші терміни цей показник вірогідно не відрізнявся від контролю. Можна припустити, що профілактичне введення КЕФТ впливало позитивно не тільки на стан видільної функції тварин, але й на процеси відновлення м'язової тканини після контузії.

Аналіз гістологічних зрізів нирок щурів показав, що профілактичне введення КЕФТ до початку моделювання контузії м'язів призводило до поліпшення струк-

тури тканин нирок щурів у порівнянні з нелікованими тваринами. Через 3 доби після контузії в корі нирок спостерігалися явища порушення ниркового кровотоку, такі як венозна гіперемія, розширення і повнокров'я капілярів мозкової речовини. В паренхімі спостерігалися осередки інфільтрації інтерстицію, локалізовані біля крововиливів (рис. 4, а), а також поблизу дистальних канальців з ознаками некрозу епітеліоцитів (рис. 4, б). Треба відзначити, що просвіти проксимальних канальців і структура їхніх клітин наближались до норми, циліндри в просвітах були рідкісними. Просвіти дистальних канальців були помірно розширені, спостерігалися гідропічна дистрофія та некрози епітеліоцитів. Морфометричні дослідження канальцевого епітелію свідчили, що показник патологічних змін складав $(2,69 \pm 0,75)$ бали.

Через 7 діб спостереження структура тканин нирок покращилася. Незважаючи на наявність дистрофічних та некротичних явищ в канальцевому епітелії, процент змінених клітин зменшився, циліндри в просвітах виявлялися рідко (рис. 5, а). В інтерстиції кори спостері-

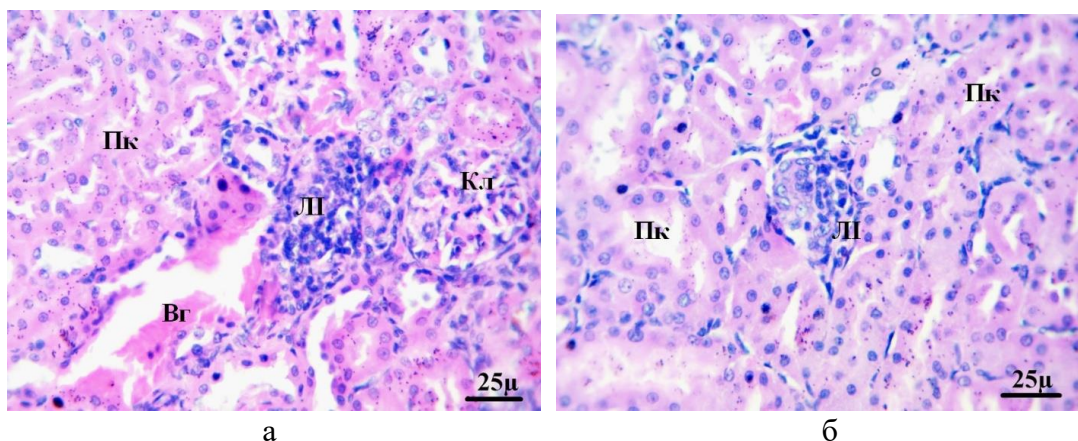


Рис. 4. Вогнища запалення та венозна гіперемія в корі нирок щурів через 3 доби після контузії м'язів на тлі превентивного введення КЕФТ. Забарвлення гематоксилін-еозин.

Примітки: Кт – нирковий клубочок; Пк – проксимальні канальці; Вг – венозна гіперемія; ЛІ – лімфоцитарно-макрофагальна інфільтрація.

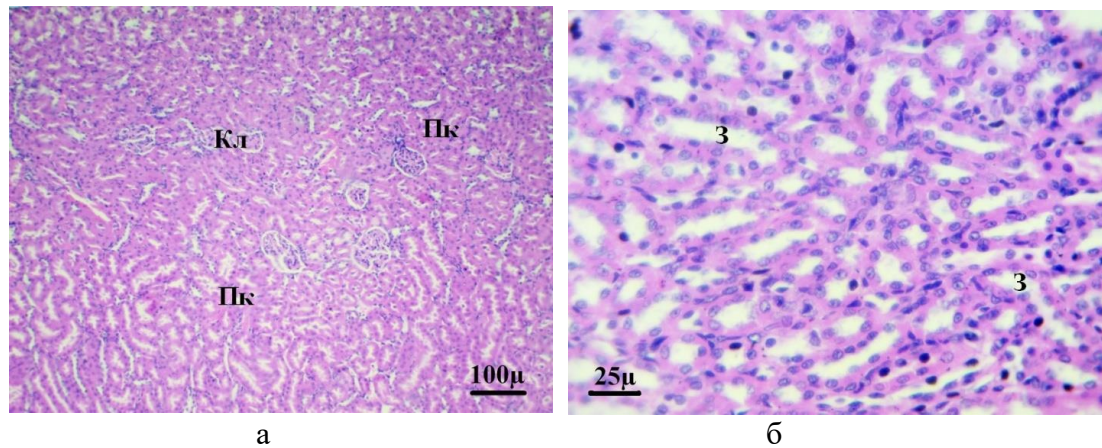


Рис. 5. Морфологічний стан кори (а) та мозкової речовини (б) нирок щурів через 7 днів після контузії м'язів на тлі превентивного введення КЕФТ. Збарвлення гематоксилін-еозин.

Примітки: Кл – ниркові клубочки; Пк – проксимальні канальці; З – збіральні трубочки.

гались осередки запалення і крововиливи, однак їх кількість скоротилась у порівнянні з нелікованими тваринами. Епітелій збіральних трубочок мозкової речовини мав нормальну структуру, просвіти не містили циліндрів і детриту (рис. 5, б). Показник патологічних змін складав $(3,15 \pm 0,55)$ бали. Через 14 днів після травмування на тлі профілактичного введення КЕФТ морфологічний стан тканини нирок практично нормалізувався, показник патологічних змін складав $(1,25 \pm 0,36)$ балу.

З огляду на те, що у складі КЕФТ вміст низькомолекулярних пептидів перевищує їхню концентрацію в криоекстракті плаценти [22], а також на доведену ефективність низькомолекулярних пептидних препаратів, які одержані з культивованих клітин кісткового мозку [23], білково-пептидного комплексу ембріональної тканини, а також алогенного криоекстракту плаценти при лікуванні ниркової недостатності у експериментальних тварин [24], можна пояснити нефропротекторний вплив КЕФТ при рабдоміолітичному ГПН. Рядом дослідників було показано, що мікрооточення

метанефроса з плодів щурів при трансплантації його в тканину нирки при гострому ураженні нирок щурів інгібувало прогресування захворювання [25]. Це певною мірою може відбуватися за рахунок активації резидентних стовбурових клітин, що виявляються у нирках дорослого організму і є попередниками як клітин клубочків (подоцитів, ендотеліоцитів), так і канальцевого епітелію [26], які можуть замінювати пошкоджені клітини цих структур. Крім того, комплекс біологічно активних речовин, що виділяється цими клітинами, також стимулює проліферацію диференційованих клітин за рахунок механізму дедиференціювання та/або редиференціювання [27; 28].

Висновки

Профілактичне введення КЕФТ до початку моделювання контузії м'язів сприяло послабленню розвитку гострого пошкодження нирок в перші 3 доби та відновленню видільної функції через 7 днів після травмування. Структура тканини нирок нормалізувалась лише через 14 днів після травмування.

Перспективність подальших досліджень полягає у вивченні динаміки розвитку рабдоміоліз-індукованого пошкодження нирок щурів після введення кріо-

екстракту фетальних тканин в якості лікувального фактора.

Конфлікт інтересів відсутній.

Література

1. Taguchi K, Ogaki S, Nagasaki T, Yanagisawa H, Nishida K, Maeda H, et al. J Carbon monoxide rescues the developmental lethality of experimental rat models of rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. *Pharmacol Exp Ther.* 2020;372(3):355-65. DOI: 10.1124/jpet.119.262485. PMID: 31924689.
2. Vanholder R, Sever MS, Ereğ E, Lomeire N. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol.* 2000; 11:1553-61. DOI: 10.1681/ASN.V1181553. PMID:10906171.
3. Afolab JM, Kanthakumar P, Williams JD, Kumar R, Soni H, Adebisi A. Post-injury inhibition of endothelin-1 dependent renal vasoregulation mitigates rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. *Function (Oxf).* 2023;4(4):zqad022. DOI: 10.1093/function/zqad022. PMID: 37342410.
4. Zimmerman JL, Shen MC. Rhabdomyolysis. *CHEST.* 2013;144(3):1058-65. DOI: 10.1378/chest.12-2016. PMID: 24008958.
5. Матвієнко ТЮ, Богуцька КІ, Ноздренко ДМ, Прилуцький ЮІ. Механічні м'язові травми: діагностування і терапія. *Фізіологічний журнал.* 2019;65(5):77-89. DOI: 10.15407/fz65.05.077.
6. Bosch X, Poch E, Grau JM. Rhabdomyolysis and acute kidney injury. *N Engl J Med.* 2009;361(1):62-72. DOI: 10.1056/NEJMra0801327. PMID: 19571284.
7. Baeza-Trinidad R, Brea-Hernando A, Morera-Rodriguez S, Brito-Diaz Y, Sanchez-Hernandez S, El Bikri L, et al. Creatinine as predictor value of mortality and acute kidney injury in rhabdomyolysis. *Intern Med J.* 2015;45(11):1173-8. DOI: 10.1111/imj.12815. PMID: 26010490.
8. Souza JD, Gottfried CJ. Muscle injury: review of experimental models. *Electromyogr Kinesiol.* 2013;23(6):1253-60. DOI: 10.1016/j.jelekin.2013.07.009. PMID: 24011855.
9. Геруш ОВ, Геруш ІВ, Горошко ОМ. Вплив тіотриазоліну на показники функції нирок у щурів з гострою гліцероловою нефропатією. *Запорізький медичний журнал.* 2010;12(5):164-6.
10. Shebeko SK, Zupanets IA, Propisnova VV. N-acetylglucosamine increases the efficacy of quercetin in the treatment of experimental acute kidney injury. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research.* 2020;8(1):53-63. DOI: 10.56499/jppres19.689_8.1.53.
11. Коляник ІО, Геруш ІВ, Григор'єва НІ. Вплив мелатоніну на стан оксидантної та антиоксидантної систем і рівень гідрогенсульфіду в крові щурів за умов експериментальної нефропатії. *Медична та клінічна хімія.* 2021;23(1):37-44. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2021.i1.12106.
12. Щудрова ТС, Заморський ІІ. Вплив органоспецифічних пептидів на протеолітичну та фібринолітичну активність у нирках за умов розвитку рабдоміолітичної гострої ниркової недостатності. *Вісник Вінницького національного медичного університету.* 2014;18(2):416-8. Доступно на: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vvnm_u_2014_18_2_21
13. Drachuk VM, Zamorskii II, Shchudrova TS, Goroshko OM. Renal effects of the sulfur-containing aminoacid derivatives (ademetionine, taurin and glutathion) in conditionally healthy animals. *Clinical Pharmacy.* 2018;22(4):20-6. DOI: 10.24959/cphj.18.1472.

14. Schaffer S, Kim HW. Effects and mechanisms of taurine as a therapeutic agent. *Biomolecules & Therapeutics*. 2018;26(3):225-41. DOI: 10.4062/biomolther.2017.251. PMID: 29631391.
15. Altun B, Yilmaz R, Aki T, Zeybek D, Piskinpasas S, Uckan D, et al. Use of mesenchymal stem cells and darbepoetin improve ischemia-induced acute kidney injury outcomes. *Am J Nephrol*. 2012;35(6):351-9. DOI: 10.1159/000339167. PMID: 22653289.
16. Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, Baxevanis CN, Papamichail M. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells*. 2006;24:74-85. DOI: 10.1634/stemcells.2004-0359. PMID: 16099998.
17. Zamorskii II, Shchudrova TS, Zeleniuk VG, Linkova NS, Nichik TE, Khavinson VKh. The Influence of peptides on the morphofunctional state of kidneys in old rats. *Adv Gerontol*. 2019;9:75-80. DOI: 10.1134/S207905701901017X.
18. Rozanova S. Antioxidant properties of extracts derived from placentae of different gestation terms. *Oxid Antioxid Med Sci*. 2014;3(3):181-6. DOI: 10.5455/oams.070914.or.073.
19. Kirpatovskiy VI, Sivkov AV, Golovanov SA, Drozhzheva VV, SamoiloVA SI, Rabinovich EZ. Prevention of the development of acute post-ischemic renal insufficiency using a protein-peptide complex of embryonal tissue. *Experimental and clinical urology*. 2019;3:32-9. DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-3-32-39.
20. Майко ОВ. Рання діагностика хронічної ниркової недостатності. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2015;19(1):263-8. Доступно на: <https://reports-vnmedical.com.ua/index.php/journal/article/view/21> [in Ukrainian].
21. Murata I, Sugai T, Murakawa Y, Miyamoto Y, Kobayashi J, Inoue Y, Kanamoto I. Salvianolic acid B improves the survival rate, acute kidney dysfunction, inflammation and NETosis mediated antibacterial action in a crush syndrome rat model. *Exp Ther Med*. 2022;23(320):1-13. DOI: 10.3892/etm.2022.11249. PMID: 35386617.
22. Репін МВ, Чиж ЮО, Марченко ЛМ, Говоруха ТП, Нарожний СВ. Склад та біологічна активність кріоекстрактів із тканин фетоплацентарного походження за різних умов виготовлення. *Проблеми кріобіології і кріомедицини*. 2023;33(1):3-13. DOI: 10.15407/cryo33.01.003.
23. Khubutiya MS, Vagabov AV, Temnov AA, Sklifas AN. Paracrine mechanisms of proliferative, anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of mesenchymal stromal cells in models of acute organ injury. *Cytotherapy*. 2014;16(5):579-85. DOI: 10.1016/j.jcyt.2013.07.017.
24. Репін МВ, Чиж ЮО, Марченко ЛМ, Говоруха ТП, Брусенцов ОФ. Вплив кріоекстракту плаценти та блокади ренін-ангіотензин-альдостеронової системи на розвиток ниркової недостатності у щурів. *Проблеми кріобіології і кріомедицини*. 2021;31(3):223-35. DOI: 10.15407/cryo31.03.223.
25. Li K, Chen Yu, Zhang J, Guan Y, Sun Ch, Li X. Microenvironment derived from meta-nephros transplantation inhibits the progression of acute kidney injury in glycerol-induced rat models. *Renal Fail*. 2020;42(1):89-97. DOI: 10.1080/0886022X.2019.1708393. PMID: 31900008.
26. Nance JR, Mammen AL. Diagnostic evaluation of rhabdomyolysis. *Muscle Nerve*. 2015;51(6):793-810. DOI: 10.1002/mus.24606. PMID: 25678154.
27. Кирпатовський ВІ, Соколов МА, Рабінович ЕЗ, Сивков АВ. Клітинні та гуморальні механізми регенерації нирки. *Експериментальна і клінічна урологія*. 2017;2:102-11.
28. Sakamoto K, Ueno T, Kobayashi N, Hara S, Hara S, Takashima Y, et al. The direction and role of phenotypic transition between podocytes and parietal epithelial cells in focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2014;306(1):98-104. DOI: 10.1152/ajprenal.00228.2013. PMID: 24154691.

Repin M.V., Marchenko L.M., Govorukha T.P., Strona V.I., Yurchenko T.M.

IMPACT OF ALLOGENEIC FETAL TISSUE CRYOEXTRACT ON KIDNEY STRUCTURE AND FUNCTIONS WHEN SIMULATING THE MUSCLE INJURIES IN RATS

Rhabdomyolysis is one of the most common causes of acute kidney injury (AKI). Pharmacological correction of AKI has still remained poorly developed, that requires finding the new approaches to its therapy and prevention, particularly, using the biologically active compounds of fetoplacental origin. Here, we have studied the nature of structural changes in renal tissue and biochemical parameters of blood and urine in rats in the model of traumatic rhabdomyolysis, as well as after administering the allogeneic CryoExtract of Fetal Tissues (CEFT) as a preventive measure. Contusion was simulated by blunt, non-penetrating impact of a heavy steel ball on the muscles of both thighs of rats under injectable anesthesia. CEFT was administered intramuscularly in a dose of 0.5 ml thrice during the week before the injury. In 1, 3, 7, 14 days after injury, animals were sacrificed and the material was collected. Simulated contusion resulted in a 1.5-fold increase in concentration of creatine kinase and was accompanied by AKI development, manifested in proteinuria, a 1.5-fold rise in creatinine level, decreased urinary creatinine and diuresis, and a 4.5-fold reduction of glomerular filtration rate. Structural changes in renal tissues were represented by tubular nephropathy with necrosis of epitheliocytes, the presence of myoglobin cylinders in the lumen of tubules of cortex and medulla, venous hyperemia, interstitial edema, and lymphocyte-macrophage infiltration. After 7 and 14 days, the parameters of excretory function of the kidneys improved, without reaching the level of intact rats. Preventive administration of CEFT promoted the weakening of AKI development within the first 3 days and restoration of excretory function in 7 days after the injury. The concentration of creatine kinase increased 1.16 times after 1 day, and did not differ from the norm later. After 7 days, the percentage of altered cells of renal tubules decreased, and no cylinders in the lumens were detected. The structure of renal tissue was normalized after 14 days. The dynamics of parameters of morphofunctional state of the kidneys revealed a nephroprotective effect of CEFT.

Keywords: *rhabdomyolysis, acute kidney injury, kidney tissue structure.*

Надійшла до редакції 14.05.2024

Відомості про авторів

Репін Микола Васильович – доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії кріоморфології, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна.

Адреса: Україна, 61016, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

E-mail: 1nvrepin@gmail.com

ORCID: 0000-0001-8983-4789.

Марченко Лариса Миколаївна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, старший науковий співробітник лабораторії кріоморфології, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна.

Адреса: Україна, 61016, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

E-mail: marchiklara@gmail.com

ORCID: 0000-0002-5152-2218.

Говоруха Тетяна Петрівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, старший науковий співробітник лабораторії кріоморфології, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна.

Адреса: Україна, 61016, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

E-mail: govoruchat@gmail.com

ORCID: 0000-0002-5293-6324.

Строна Віра Іванівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, старший науковий співробітник лабораторії кріоморфології, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна.

Адреса: Україна, 61016, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

E-mail: strona.vera@gmail.com

ORCID: 0000-0003-0939-6833.

Юрченко Тетяна Миколаївна – доктор медичних наук, професор; старший науковий співробітник лабораторії кріоморфології, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна.

Адреса: Україна, 61016, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

E-mail: tatanaurcenko360@gmail.com

ORCID: 0000-0002-1259-8906.