ЦИТОЛОГИЯ, 2020, том 62, № 6, с. 410–417

УДК 576.3/.53/.7

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА НЕФРЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС

© 2020 г. И. Б. Соколова[1], *, Н. Н. Павличенко[2]

[1]*Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия*

[2]*ООО Транс-Технологии, Санкт-Петербург, 192148 Россия*

**E-mail: SokolovaIB@infran.ru*

Поступила в редакцию 27.02.2020 г.
После доработки 04.03.2020 г.
Принята к публикации 05.03.2020 г.

Цель исследования – изучить влияние внутривенной трансплантации стволовых клеток человека (МСКч) на основные параметры микроциркуляции (плотность микрососудистой сети, реактивность артериальных сосудов, тканевые перфузия (ТП) и сатурация кислородом (СатО2)) в коре головного мозга крыс после нефрэктомии. С помощью установки для изучения микроциркуляции (с увеличением 40×) исследовали плотность всей микрососудистой сети и плотность артериальных сосудов в пиальной оболочке сенсомоторной коры головного мозга нефрэктомированных крыс после внутривенной трансплантации МСКч. На этой же установке с большим увеличением (160×) исследовали реактивность пиальных артерий на воздействие ацетилхолина (ACh). Параллельно с помощью лазерного допплерографа ЛАКК-М в сенсомоторной коре измеряли показатели ТП и СатО2. Результаты показали, что через 4 мес. после нефрэктомии у крыс (удаление 5/6 частей всей почечной ткани) плотность всей микрососудистой сети и плотность артериальных сосудов понижалась в среднем в 1.3 и 1.5 раз соответственно. Реактивность пиальных артерий на действие ACh значительно ухудшалась: число расширившихся артерий уменьшилось в 2.1–4.4 раза. При этом статистически значимо понижались ТП (на 20%) и СатО2 (с 94.8 ± 0.7% до 91.2 ± 1.8%). Внутривенное введение МСКч привело к сохранению плотности микрососудистой сети пиальной оболочки (на уровне контрольных животных) у крыс после нефрэктомии. Все остальные показатели микроциркуляции (реактивность, ТП, SO_2) в группе клеточной терапии также не отличались от контрольных значений. Сделано заключение о том, что применение МСКч позволяет предотвратить деградацию микрососудистого русла в коре головного мозга крыс после нефрэктомии и сохранить основные показатели микроциркуляции на уровне контрольных животных.

Ключевые слова: нефрэктомия, головной мозг, внутривенная трансплантация, мезенхимные стволовые клетки, плотность микрососудистого русла, реактивность, перфузия, сатурация кислородом

DOI: 10.31857/S0041377120060103

Хроническая болезнь почек (ХБП) (Шутов, 2014; Борисов, Шилов, 2016) – одна из глобальных медицинских проблем XXI века. К настоящему времени показано, что все патологии сосудистой системы, вызванные ХБП, распространяются и на микрососуды головного мозга. При данном заболевании происходит кальцификация церебральных сосудов (Jono et al., 2006), развивается эндотелиальная дисфункция (Bugnicourt et al., 2011), что приводит к деструкции микрососудов (Ikram et al., 2008) и повреждению мозговой ткани (Yakushiji et al., 2010; Vogels et al., 2012). В результате на 4–5 стадиях ХБП у пациентов в среднем в 20–35 раз чаще, чем в общей популяции возникают сердечно-сосудистые заболевания (Маркова, Шварц, 2013; Ohno et al., 2016), в несколько раз чаще развиваются геморрагические и ишемические инсульты (Seliger et al., 2003), в 4–5 раз чаще наблюдаются лакунарные инсульты (Kobayashi et al., 2004) и повышается риск формирования когнитивных нарушений и деменций (Murray, 2008; Seliger et al., 2004).

В последнее десятилетие применение мезенхимных стволовых клеток (МСК) при ХБП рассматривают как перспективный метод лечения (Lin, 2008; Hu, Zou, 2017). Клеточная терапия направлена на сохранение структуры и функции почки (Choi et al., 2009; Asanuma et al., 2010). Вопрос о влиянии трансплантации МСК на микроциркуляцию в головном мозге пациентов с ХПБ практически не исследован.

Принятые сокращения: АД – артериальное давление; ЛО – ложнооперированные крысы; МСК и МСКч – мезенхимные стволовые клетки и МСК человека соответственно; СатО2 – тканевая сатурация кислородом; ТП – тканевая перфузия; ХБП – хроническая болезнь почек; ACh – ацетилхолин.

Цель представленной работы – изучить влияние внутривенной трансплантации МСК человека (МСКч) на основные параметры микроциркуляции (плотность микрососудистой сети, реактивность артериальных сосудов, тканевые перфузия и сатурация кислородом) в коре головного мозга крыс после нефрэктомии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работу проводили на животных из биоколлекции "Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности" Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург), поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России. Исследования вели в соответствии с регламентом, установленным МЗСР РФ № 708н от 23.08.10 ("Правила лабораторной практики") и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, и рекомендациями биоэтической комиссии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Животные. Эксперименты проводили на крысах-самцах Wistar (n = 36). Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. В начале эксперимента возраст животных составлял 3 мес., масса – 250–280 г; в конце эксперимента – 7 мес. и 400–500 г соответственно. Все хирургические и экспериментальные действия осуществляли на крысах, наркотизированных интраперитониально (золетил, 20 мг на 1 кг веса; Virbac, Франция), а эвтаназию – путем введения увеличенной дозы наркоза.

МСКч. Для внутривенной трансплантации использовали МСКч, выделенные из костного мозга, полученного от одного донора путем подвздошной пункции. Эксплантацию МСКч из костного мозга, их культивирование и фенотипирование проводили по стандартным общепринятым методикам (Pavlichenko et al., 2008). В частности, для культивирования МСКч использовали питательную среду α-MEM (Hyclone, Новая Зеландия), содержащую 20% сыворотки крови эмбрионов коров (Gibco, США) и 100 мкг/мл смеси пенициллина и стрептомицина (Gibco, США). Фенотипирование МСКч проводили методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитофлуориметре FACSscan (Beckton Dickinson, США). МСКч окрашивали антителами против позитивных маркеров CD90, CD105, CD44, CD73 и антителами против негативных маркеров CD45, CD34, CD14, CD11b, HLA-DR и 7AAD (Beckton Dickinson, США).

Для проведения исследований были сформированы 3 группы животных возраста 7–8 мес. через 4 мес. после хирургического воздействия: 1) контрольная группа – ложнооперированные (ЛО) крысы (n = 10); 2) крысы после нефрэктомии, (n = 15); 3) крысы после нефрэктомии и внутривенной трансплантация МСКч (n = 11).

Нефрэктомия и внутривенная трансплантация МСКч. Удаление 5/6 частей всей почечной ткани проводили по следующей схеме (Смирнов и др., 2005): на первом этапе у наркотизированных золетилом крыс удаляли 2/3 ткани одной почки. Второй этап – удаление второй почки целиком у наркотизированных животных – проводили через 1 нед. Трансплантацию МСКч (5 млн клеток в 100 мкл культуральной среды α-MEM) проводили через 5 сут после первого этапа нефрэктомии.

Визуализацию и мониторинг микрососудистой сети проводили через 4 мес. после нефрэктомии и трансплантации МСКч. У наркотизированных животных удаляли теменную кость и твердую мозговую оболочку, тем самым открывая доступ к пиальной оболочке сенсомоторной коры. Поверхность мозга непрерывно орошали раствором Кребса при температуре 37°С. На протяжении всего эксперимента измеряли среднее артериальное давление (АД) инвазивным методом через катетер в бедренной артерии, соединенный с датчиком DTXPlusTM (Argon Critical Care Systems, Сингапур), подключенным через USB-устройство ввода сигнала в компьютер, работающий с программой визуализации значений АД. АД у ЛО крыс составляло в среднем 117 ± 3.5 мм рт. ст.; после нефрэктомии – 159 ± 1.5 мм рт. ст.; после нефрэктомии и введения МСКч – 152 ± 1.7 мм рт. ст. Температуру тела животных в течение всего эксперимента поддерживали на уровне 38°С. Визуализацию пиальных артерий (при общем увеличении оптической системы 40×) проводили с помощью оригинальной установки, включающей в себя стереоскопический микроскоп MC-2ZOOM (Микромед, Россия), цветную камеру (видеоокуляр) для микроскопа DCM-510 (Scopetek, Китай) и персональный компьютер.

На статических изображениях с помощью компьютерной программы для цитофотометрии Photo M (авторская разработка А. Черниговского: http://www.t_lambda.chat.ru) определяли число артерий и артериол и общее число микрососудов на определенной площади. При 160-кратном увеличении измеряли диаметры пиальных артериальных сосудов. В ходе эксперимента у каждого животного исследовали более 20 пиальных микрососудов. Диаметры артерий и артериол фиксировали в стандартных условиях при непрерывном орошении поверхности мозга раствором Кребса и при орошении мозга раствором ацетилхолина (ACh) в концентрации 10^{-7} М/л (Sigma-Aldrich, США). Экспериментально показано, что пиальные микрососуды разного диаметра реагируют на воздействие ACh не одинаково: чем меньше исходный диаметр, тем больше реакция (Горшкова и др., 2016). В связи с этим мы также разбили все исследованные пиальные артериальные микрососуды на группы: более 80 мкм, 60–80 мкм, 40–60 мкм, 20–40 мкм и менее 20 мкм. О результатах воздействия ACh судили

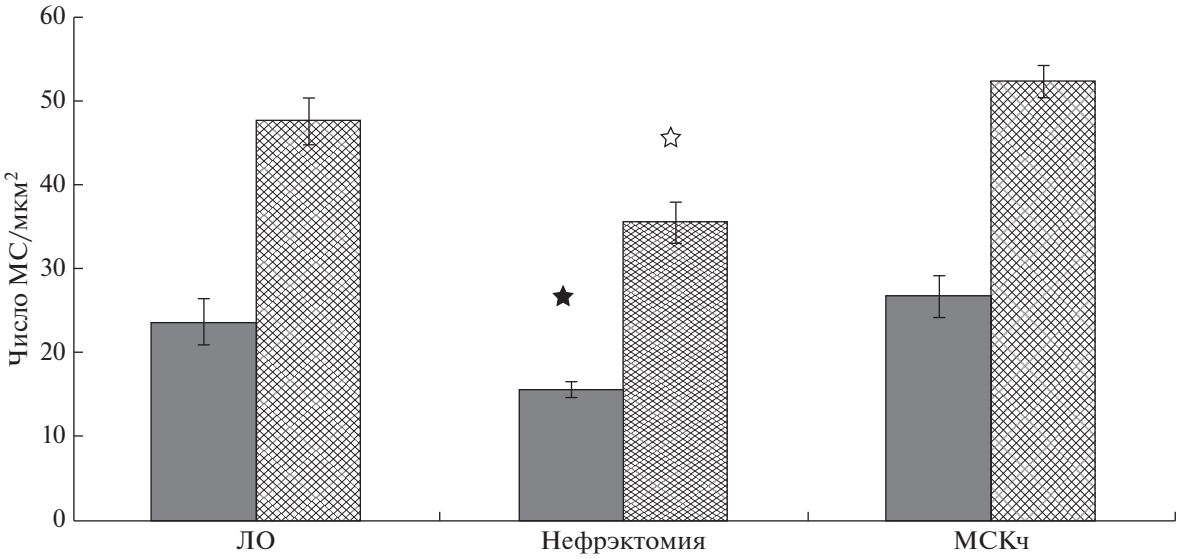

Рис. 1. Плотность микрососудистой сети (МС) пиальной оболочки сенсомоторной коры головного мозга в группах экспериментальных животных: ЛО контрольные, ложно-оперированные, после нефрэктомии и после нефректомии и трансплантации МСКч. Плотность МС указана как число микрососудов на площадь пиальной оболочки, на которой был произведен подсчет (мкм^2). *Темные столбцы* – плотность артериальных микрососудов ($M \pm SE$) ($p < 0.05$), *заштрихованные столбцы* – плотность всей микрососудистой сети. Даны средние значения и их ошибки (*вертикальные отрезки*). Достоверность отличий от соответствующего контроля (ЛО) при $P < 0.05$ указана *звездочкой*.

по числу артериальных сосудов, изменивших свой диаметр, и по степени их расширения.

У тех же экспериментальных животных с помощью многофункционального лазерного диагностического комплекса ЛАКК-М (ЛАЗМА, Россия) измеряли ТП и СатО2 в ткани коры головного мозга. Датчик прибора размещали в 3-х точках над сенсомоторной корой со следующими приблизительными координатами: АР = +1, +2 или +3 мм от брегмы; SD = 1 мм латерально от сагиттального шва. Прилагаемое к комплексу ЛАКК-М программное обеспечение автоматически рассчитывало среднюю величину показателя микроциркуляции (ТП) и определяло SO_2 методом оптической тканевой оксиметрии. Группой сравнения для экспериментальных животных служила группа ЛО-животных.

Статистическая обработка данных. Использовали пакет статистических программ Microsoft Excel 2003 и программы InStat 3.02 (GraphPad Software Inc., США). Данные представлены в виде среднего арифметического значения и его ошибки. Сравнение средних данных независимых выборок при нормальном характере распределения вариант в совокупности данных (выборке) рассчитывали при помощи дисперсионного анализа с последующим попарным сравнением групп согласно критерию Тьюки. При распределении вариант в выборке, отличном от нормального, при сравнении групп применяли критерий Краскела–Уоллиса с последующим попарным сравнением групп согласно критерию Данна. Достоверным уровнем отличий считали вероятность не менее 95% ($P < 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ культуры МСКч методом проточной цитофлуориметрии показал, что она состояла на 99.7% из клеток, несущих маркеры CD90$^+$, CD73$^+$, CD105$^+$ и CD44$^+$ (собственно МСК), на 0.3% – из клеток с маркерами CD45$^+$ и CD34+ (клеток гемопоэтического ряда) и на 0.5% – из клеток с маркерами CD14$^+$, CD11b$^+$, HLA-DR$^+$. Нежизнеспособных клеток с маркером 7AAD$^+$ было не более 0.9–1%.

Результаты исследования плотности микрососудистой сети пиальной оболочки сенсомоторной коры у интактных и нефрэктомированных крыс представлены на рис. 1. Плотность всей микрососудистой сети у нефрэктомированных животных была в среднем ниже в 1.3 раза по сравнению с контрольными крысами (ЛО); плотность артерий и артериол – примерно в 1.5 раза. В группе нефрэктомированных животных, которым была проведена внутривенная трансплантация МСКч, плотность микрососудистой сети пиальной оболочки сохранилась в полном объеме, т.е. на уровне ЛО-крыс.

В группе нефрэктомированных животных мы выявили значительное ухудшение реактивности стенок пиальных артерий и артериол при аппликации на поверхность мозга вазодилататора ACh (рис. 2). На воздействие ACh у нефрэктомированных крыс увеличением диаметра ответило в 2.1–4.4 раза меньше артериальных сосудов, чем в ЛО-группе (рис. 2*а*). По степени изменения диаметра (рис. 2*б*) видно, что у контрольных (ЛО) животных все группы артерий и артериол (кроме самых крупных, диаметром более

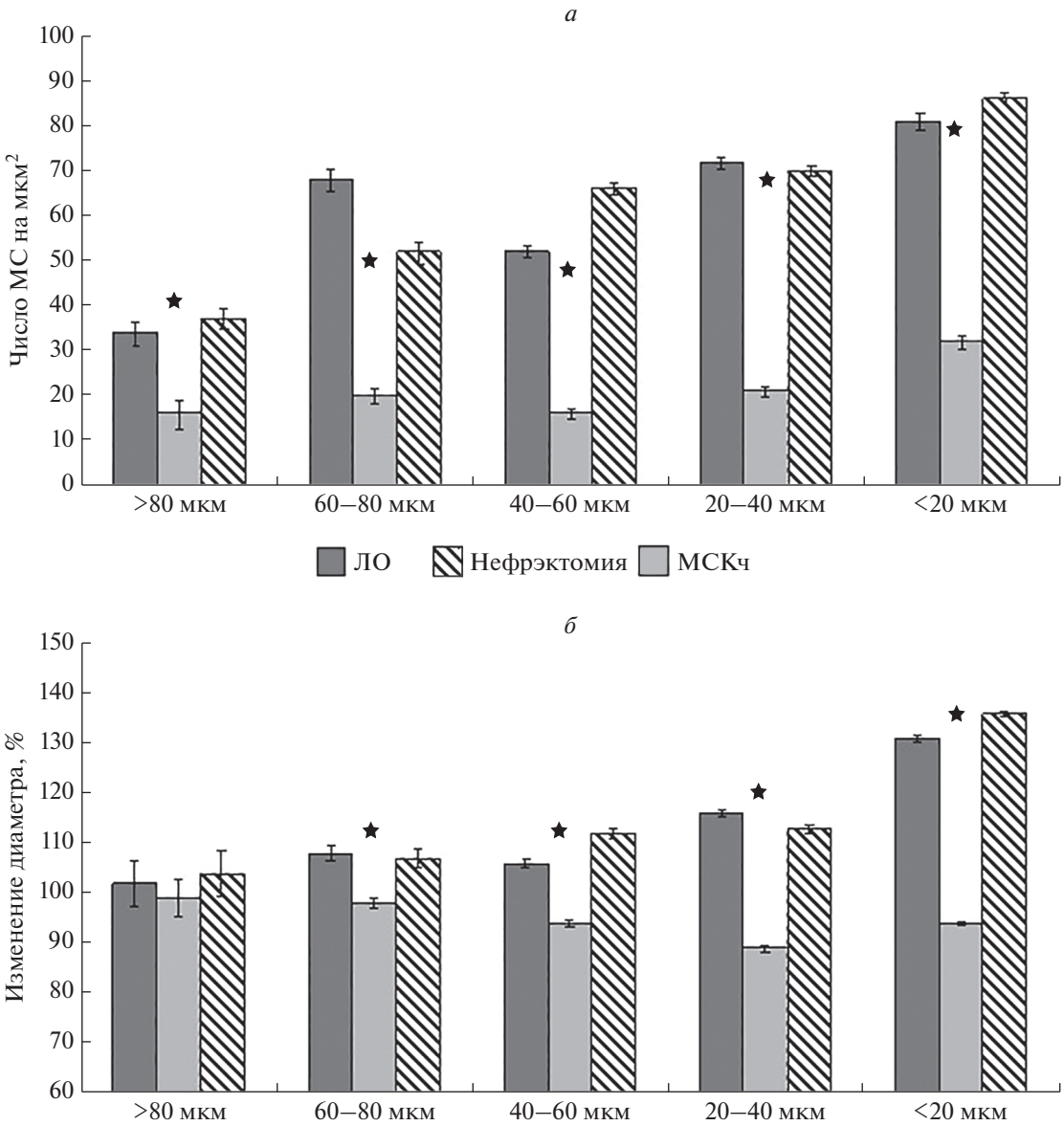

Рис. 2. Реакция пиальных артерий и артериол на воздействие ацетилхолина. Число пиальных артерий и артериол, ответивших дилатацией на воздействие (*а*) и степень изменения диаметра пиальных артерий и артериол по отношению к исходному, принятому за 100% (*б*). Столбцы: *темные* – контрольные (ЛО) крысы, *светлые* – крысы после нефрэктомии, *заштрихованные* – после нефрэктомии и трансплантации МСКч. Даны средние значения и их ошибки. Достоверность отличий между группами при $P < 0.05$ указана *звездочкой*.

80 мкм) увеличили диаметр на 6–31%, тогда как у нефрэктомированных животных артерии диаметром от 40 мкм и меньше статистически значимо уменьшили диаметр на 6–10%. Применение МСКч позволило сохранить и реактивность пиальных артерий и артериол на уровне ЛО-животных. Как видно на рис. 2, в группе клеточной терапии расширением на воздействие ACh ответило столько же артериальных микрососудов, сколько в контрольной группе. Степень их расширения была такой же, как у ЛО-животных.

У нефрэктомированных животных мы выявили понижение показателя ТП в среднем на 20% (рис. 3*а*) и СатО2 – на 4% (рис. 3*б*). Трансплантация МСКч привела к сохранению более высокого уровня ТП, чем у нефрэктомированных животных, не получавших клеточной терапии (нет статистически значимых различий между группой нефрэктомированных животных, не получавших МСКч, и группой клеточной терапии) и СатО2 практически на уровне ЛО-крыс.

ОБСУЖДЕНИЕ

Применение МСК для коррекции микроциркуляторных нарушений в головном мозге при недоста-

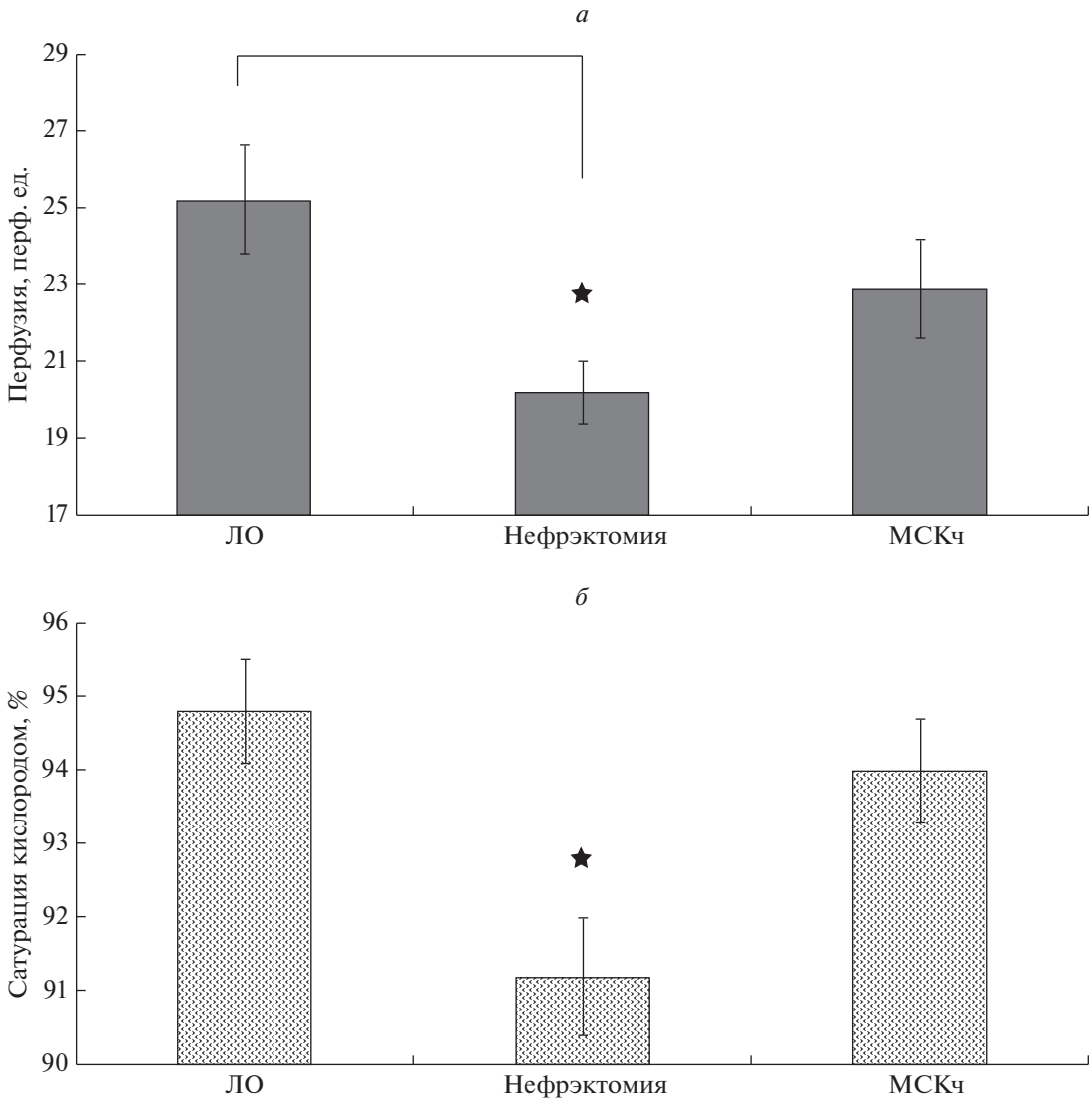

Рис. 3. Уровень тканевой перфузии (*а*) и сатурации кислородом (*б*) в сенсомоторной коре головного мозга крыс контрольных (ЛО), после нефрэктомии и трансплантации МСКч. Даны средние значения и их ошибки. Достоверность отличий от группы ЛО при $P < 0.05$ указана *звездочкой*.

точном функционировании почек – новый, практически не исследованный метод. Механизм влияния МСК на церебральную микроциркуляцию нефрэктомированных животных пока не исследован. Применение МСК позволяет улучшить функцию почек при ХБП различной этиологии (Peired et al., 2016). Положительный терапевтический эффект наблюдали в течение 3–18 мес. Уменьшение влияния уремических токсинов на сосуды способствует сохранению церебральной микроциркуляции. С другой стороны, МСК могут влиять на развитие воспалительных реакций, которые после удаления почечной ткани неизбежно возникают непосредственно в головном мозге. Применение МСК позволяет купировать тканевое воспаление (Newman et al., 2009), развитие окислительного стресса (Calio et al., 2014), в частности за счет выделения ими нейропротекторных веществ (Mahmood et al., 2004).

В последние годы в зарубежной литературе появился ряд работ, доказывающих, что трансплантация МСК восстанавливает функцию эндотелия мозговых сосудов (Chung et al., 2015; Abumaree et al., 2017). Ранее на старых и спонтанно гипертензивных крысах мы наблюдали восстановление плотности микрососудистого русла пиальной оболочки, функции эндотелия у пиальных артерий и динамических параметров микроциркуляции в коре головного мозга в течение года после интрацеребральной трансплантации МСК (Соколова и др., 2015; Соколова, Полынцев, 2017а, 2017б).

Мы полагаем, что полученный нами в настоящей работе положительный эффект от внутривенной

трансплантации МСКч нефрэктомированным крысам укладывается в существующую концепцию терапевтического действия МСК. Сохранение плотности церебральных микрососудов – важнейший положительный факт в предотвращении развития лакунарных инсультов. Как известно, наиболее эффективный газообмен в ткани головного мозга происходит на уровне артерий и артериол диаметром менее 100 мкм (Linninger et al., 2013). Высокое напряжение кислорода в ткани наблюдали на расстоянии не более 30–40 мкм от этих сосудов (Вовенко, Чуйкин, 2009; Tsai et al., 2003). Урежение микрососудистого русла, отмеченное у нефрэктомированных животных, приводит к формированию в мозге ишемизированных тканевых зон с низким парциальным давлением кислорода. Преобладание констрикторной реакции на воздействие ACh свидетельствует об эндотелиальной дисфункции сосудистого сегмента (Rosenblum, 2018). Применение МСКч позволило сохранить реактивность пиальных артерий и артериол на уровне контрольных животных. Предотвращение развития эндотелиальной дисфункции – важнейшая задача всех лечебных мероприятий при ХБП. Именно нарушение функции эндотелия в настоящее время рассматривается в качестве основного механизма развития почечных заболеваний (Martens et al., 2016).

Нарушения в структуре и функции микрососудистой сети и пиальных артерий повлияли на динамические характеристики микроциркуляции в коре головного мозга – ТП и СатО2. Снижение скорости тканевого кровотока в головном мозге, интегральным показателем которого является измеряемая нами перфузия, характерно для ХБП (Курапова и др., 2013). Понижение СатО2 сигнализирует о недостаточном снабжении ткани мозга кислородом. Трансплантация МСКч в процессе удаления почечной ткани привела к сохранению более высокого уровня ТП, чем у нефрэктомированных животных, не получавших клеточной терапии (нет статистически значимых различий между группой нефрэктомированных животных, не получавших МСКч, и группой клеточной терапии) и СатО2 практически на уровне контрольных крыс. Сохранение снабжения мозговой ткани кислородом может предотвратить развитие лакунарных инсультов.

Итак, внутривенная трансплантация МСКч нефрэктомированным животным на начальной стадии развития почечной патологии привела к сохранению структуры микрососудистой сети пиальной оболочки коры головного мозга, предотвратила развитие эндотелиальной дисфункции в этом сосудистом сегменте, позволила поддерживать тканевую перфузию и сатурацию кислородом в сенсомоторной коре на уровне этих показателей у контрольных животных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-015-00047).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты на крысах проводили в соответствии с регламентом, установленным МЗСР РФ № 708н от 23.08.10 (“Правила лабораторной практики”) и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, и рекомендациями биоэтической комиссии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Борисов В.В., Шилов Е.М. 2016. Хроническая почечная недостаточность. Урология. № 3. С. 28. (*Borisov V.V., Shilov E. M.* 2016. Chronic kidney disease. Urologiya. № 3. P. 28.)

Вовенко Е. П., Чуйкин А. Е. 2009. Профили тканевого напряжения кислорода вблизи артериол и венул коры головного мозга крыс при развитии острой анемии. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. Т. 95. № 7. С. 673. (*Vovenko E.P., Chuikin A.E.* 2009. Tissue oxygen tension profiles close to brain arterioles and venules in the rat cerebral cortex during the development of acute anemia. Ros. Fiziol. Zhurn. im. I. M. Sechenova. V. 95. № 7. P. 673.)

Горшкова О.П., Шуваева В.Н., Ленцман М.В., Артемьева А.И. 2016. Постишемические изменения вазомоторной функции эндотелия. Современные проблемы науки и образования. № 5. http://www.science-education.ru. (*Gorshkova O.P., Shuvaeva V.N., Lenstman M.V., Artem'eva A I.* 2016. Post-ischemic changes in vasomotor endothelial function. Sovremennye Problemy Nauki i Obrazovaniya. № 5. http://www.science-education.ru

Курапова М.В., Низямова А.Р., Ромашева Е.П., Давыдкин И.Л. 2013. Эндотелиальная дисфункция у больных хронической болезнью почек. Известия Самарского научного центра РАН. Т. 5. № 3(6). С. 1823. (*Kurapova M.V., Nizyamova A.R., Romasheva E.P., Davydkin I.L.* 2013. Endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease. Izvestiya Samarskogo Nauchnogo Tsentra RAN. V. 5. № 3(6). P. 1823.)

Маркова А.В., Шварц Ю.Г. 2013. Прогрессирование хронической болезни почек и динамика факторов сердечно-сосудистого риска в течение 12 мес. у больных артериальной гипертонией и сахарным диабетом 2 типа. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. Т. 12. № 5. С. 16. (*Markova A.V., Shvarts Yu.G.* 2013. Progression of chronic kidney disease and cardiovascular risk factors dynamics over 12-month period in patients with arterial hypertension and type 2 diabetes. Kardiovaskulyarnaya Terapiya i Profilaktika. V. 12. № 5. P. 16.)

Смирнов А.В., Добронравов В.А., Неворотин А.И., Хохлов С.Е., Сиповский В.Г., Барабанова В.В., Чефу С.Г., Жлоба А.А., Блашко Э.Л. 2005. Гипергомоцистеимия усугубляет

повреждения нефрона при экспериментальной хронической почечной недостаточности. Нефрология. Т. 9. № 4. С. 67. (*Smirnov A.V., Dobronravov V.A., Nevorotin A.I., Hohlov S.E., Sipovskiy V.G., Barabanova V.V., Chefu S.G., Zhloba A.A., Blashko E.L.* 2005. Hyperhomocysteinemia aggravates nephron damage in experimental chronic kidney disease. Nephrologiya. V. 9. № 4. P. 67.)

Соколова И.Б., Анисимов С.В., Пузанов М.В., Сергеев И.В., Дворецкий Д.П. 2015. Старение микрососудистой сети, образовавшейся в коре головного мозга после интрацеребральной трансплантации МСК. Успехи геронтологии. Т. 28. № 1. С. 48. (*Sokolova I.B., Anisimov S.V., Puzanov M.V., Sergeev I.V., Dvoretskiy D.P.* 2015. Ageing of microvascular bed formed in cortex following intracerebral MSC transplantation. Uspehi Gerontologii. V. 28. № 1. P. 48.)

Соколова И.Б., Полынцев Д.Г. 2017а. Эффективность применения МСК для улучшения микроциркуляции в коре головного мозга спонтанно гипертензивных крыс. Цитология. Т. 59. № 4. С. 279. (*Sokolova I.B., Polyntsev D.G.* 2017. Efficacy of MSC for the improvement of cerebral microcirculation in spontaneously hypertensive rats. Tsitologiya. V. 59. № 4. P. 279.)

Соколова И.Б., Полынцев Д.Г. 2017б. Реактивность пиальных артерий при гипертонии: влияние МСК. Российский физиологический журн. им. И.М. Сеченова. Т. 103. № 12. С. 1405. (*Sokolova I.B., Polyntsev D.G.* 2017. Reactivity of pial arteries in hypertension: MSC influence. Ros. Fiziol. Zhurn. im. I.M. Sechenova. V. 103. № 12. P. 1405.)

Шутов А.М. 2014. Хроническая болезнь почек – глобальная проблема XXI века. Клиническая медицина. Т. 92. № 5. С. 5. (*Shutov A.M.* (2014) Chronic kidney disease – a global problem in the XXI century. Klinicheskaya Med. V. 92. № 5. P. 5.)

Abumaree M., Hakami M., Abomaray F. 2017. Human chorionic villous mesenchymal stem/stromal cells modify the effects of oxidative stress on endothelial cell functions. Placenta. V. 59. P. 74.

Asanuma H., Meldrum D., Meldrum K. 2010. Therapeutic application of mesenchymal stem cells to repair kidney injury. J. Urol. V. 184. № 1. P. 26.

Bugnicourt J., Silveira C., Bengrine A., Godefroy O., Baumbach G., Sevestre H., Bode-Boeger S., Kielstein J., Massy Z., Chillon J. 2011. Chronic renal failure alter endothelial function in cerebral circulation in mice. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. V. 301. P. H1143.

Calio M., Marinbo D., Ko G., Ribeiro R., Carbonel A., Oyama L., Ormanji M., Guirao T., Calio P., Reis L., Simoes M., Lisboa-Nascimento T., Ferreira A., Bertoncini C. 2014. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells decreases oxidative stress, apoptosis, and hipppocampal damage in brain of a spontaneous stroke model. Free Rad.l Bio.l Med. V. 70. P. 141.

Choi S., Park M., Kim J., Hwang S., Park S., Lee Y. 2009. The role of mesenchymal stem cells in the functional improvement of chronic renal failure. Stem Cells Dev. V. 18. P. 521.

Chung T., Kim J., Choi B. 2015. Adipose-derived mesenchymal stem cells reduce neuronal death after transient global cerebral ischemia through prevention of blood-brain barrier disruption and endothelial damage. Stem Cells Trans. Med. V. 4. P. 178.

Hu H., Zou C. 2017. Mesenchymal stem cells in renal ischemia – reperfusion injury: biological and therapeutic perspectives. Curr Stem Cell Res. Ther. V. 12. P. 183.

Ikram M., Vernooij M., Hofman A., Niessen W., Lugt A., Breteler M. 2008. Kidney function is related to cerebral small vessel disease. Stroke. V. 39. P. 55.

Jono S., Shioi A., Ikari Y. 2006. Vascular calcification in chronic kidney disease. J. Bone Miner. Metab. V. 24. P. 176.

Kobayashi S., Ikeda T., Moriya H., Ohtake T., Kumagai H. 2004. Asymptomatic cerebral lacunae in patients with chronic kidney disease. Am. J. Kidney Dis. V. 44. P. 35.

Lin F. 2008. Renal repair: role of bone marrow stem cells. Pediatr. Nephrol. V. 23. P. 851.

Linninger A., Gould I., Marinnan T., Hsu C.-Y., Chojecki M., Alaraj A. 2013. Cerebral microcirculation and oxygen tension in the human secondary cortex. Ann. Biomed. Engin. V. 41. P. 2264.

Mahmood A., Lu D., Choop M. 2004. Intravenous administration of marrow stromal cells (MSCs) increases the expression of growth factors in rat brain after traumatic brain injury. J. Neurotrauma. V. 21. P. 33.

Martens C., Kirkman D., Edwards D. 2016. The vascular endothelium in chronic ridney disease: a novel target for aerobic exercise. Exerc. Sport Sci. Rev. V. 44. P 2.

Murray A. 2008. Cognitive impairment in the aging dialysis and chronic kidney disease populations: an occult burden. Adv. Chronic Kidney Dis. V. 15. P. 123.

Newman R., Yoo D., LeRoux M. 2009. Treatment of inflammatory diseases with mesenchymal stem cells. Inflammat. Allergy. V. 8. P. 110.

Ohno Y., Kanno Y., Takenaka T. 2016. Central blood pressure and chronic kidney disease. World J. Nephrol. V. 5. P. 90.

Pavlichenko N., Sokolova I., Vijde S., Shvedova E., Alexandrov G., Krouglyakov P., Fedotova O., Gilerovich E., Polyntsev D., Otellin V. 2008. Mesenchymal stem cells transplantation could be beneficial for treatment of experimental ischemic stroke in rats. Brain Res. V. 1233. P. 203.

Peired A., Sisti A., Romagnani P. 2016. Mesenchymal stem cell-based therapy for kidney disesse: A review of clinical evidence. Stem Cell Int. Article ID: 4798639. https://doi.org/10.1155/2016/4798639

Rosenblum W. 2018. Endothelium-dependent responses in the microcirculation observed *in vivo*. Acta Physiol. (Oxf). V. 224. P. e13111.

Seliger S., Gillen D., Longstreth W., Kestenbaum B., Stehman-Breen C. 2003. Elevated risk of stroke among patients with end-stage renal disease. Kidney Int. V. 64. P. 603.

Seliger S., Siscovick D., Stehman-Breen C., Gillen D., Fitzpatrick A., Bleyer A., Kuller L. 2004. Moderate renal impairment and risk of dementia among older adults: The cardiovascular health cognition study. J. Am. Soc. Nephrol. V. 15. P. 1904.

Tsai A., Johnson P., Intaglietta M. 2003. Oxygen gradients in the microcirculation. Physiol. Res. V. 83. P. 933.

Vogels S., Emmelot-Vonk M., Verhaar H., Koek H. 2012. The association of chronic kidney disease with brain lesions on MRI or CT: A systematic review. Maturitas. V. 71. P. 331.

Yakushiji Y., Nanri Y., Hirotsu T., Nishihara M., Hara M., Nakajima J., Eriguchi M., Nishiyama M., Hara H., Node K. 2010. Marked cerebral atrophy is correlated with kidney dysfunction in nondisabled adults. Hypertens Res. V. 33. P. 1232.

The Efficacy of Mesenchymal Stem Cells Transplantation for Improvement of Microcirculation in the Cerebral Cortex of Nephrectomized Rats

I. B. Sokolova[a], * and N. N. Pavlichenko[b]

[a] *Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034 Russia*

[b] *Trans-Technologies, Ltd, St. Petersburg, 192148 Russia*

**e-mail: SokolovaIB@infran.ru*

The purpose of the work was to study the effect of intravenous transplantation of human mesenchymal stem cells (hMSC) on the main parameters of microcirculation (microvascular network density, arterial vessel reactivity, tissue perfusion (P) and oxygen saturation (SatO2)) in rat cerebral cortex after nephrectomy. Using the device for studying microcirculation (40× magnification), the density of the entire microvascular network and the density of arterial vessels in the pia mater of the sensorimotor cortex of nephrectomized rats were studied after intravenous transplantation of hMSC. The same device with a larger magnification (160×) was used to study the reactivity of the pial arteries to the acetylcholine (ACh). At the same time, the P and SatO2 indices were measured in the sensorimotor cortex using the LAKK-M laser Doppler. The results demonstrated that 4 months after nephrectomy, the density of the entire microvascular network and the density of arterial vessels decreased on average by 1.3 and 1.5 times, respectively. The reactivity of the pial arteries to ACh deteriorated significantly: the number of enlarged arteries decreased by 2.1–4.4 times. At the same time, a statistically significant decrease of P (by 20%) and SatO2 (from 94.8 ± 0.7% to 91.2 ± 1.8%) was detected. Intravenous administration of hMSC led to the maintenance of the density of the microvascular network of the pia mater in rats after nephrectomy at the same level as in control animals. All other parameters of microcirculation (reactivity, P, SatO2) in the group of cell therapy were also close to the control values. In conclusion, MSCs administration allowed to prevent the degradation of the microvascular bed in the cerebral cortex of rats after nephrectomy and to maintain the main parameters of microcirculation at the same level as in control animals.

Keywords: nephrectomy, brain, intravenous transplantation, mesenchymal stem cells, microvascular bed density, reactivity, perfusion, oxygen saturation