

Глоба В.Ю.¹, Самбург Я.Ю.², Божок Г.А.¹, Легач Є.І.¹¹ Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна² Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна

Біохімічні показники крові щурів з інфравезикальною обструкцією при введенні біологічно активних композицій, що містять нейротрофічні фактори

Резюме. Існує багато урологічних захворювань, які супроводжуються інфравезикальною обструкцією. При цьому розвивається обструктивна уропатія, що може призводити до ниркової недостатності з подальшою інвалідизацією і загибеллю хворих. Сьогодні не існує методів лікування, які є альтернативою хронічному гемодіалізу та трансплантації нирки, що сприяють структурному і функціональному відновленню нирок. Досліджували біохімічні показники крові (рівні загального білка, сечовини, креатиніну) після введення біологічно активних композицій, що містять нейротрофічні фактори, у самок щурів з інфравезикальною обструкцією. Експериментальну модель отримували шляхом накладання лігатури на дистальний відділ сечового тракту. Як біологічно активні композиції використовували кріоекстракт спінальних гангліїв, кондиціоновані середовища від культур нативних і кріоконсервованих мантійних гліоцитів, базове середовище культивування, кортексин. Біологічно активні композиції вводили внутрішньочеревно тваринам протягом 10 днів. Визначали показники білкового й азотистого обмінів. Застосування всіх біологічно активних композицій не викликало підвищення рівнів сечовини в крові. При цьому кріоекстракт спінальних гангліїв і кондиціоновані середовища від культур нативних і кріоконсервованих мантійних гліоцитів підвищували рівень загального білка на 51,5, 13,3, 29,9 % відповідно порівняно з показниками контрольних тварин. Тільки в щурів з інфравезикальною обструкцією, яким здійснювалося введення кондиціонованого середовища від культури кріоконсервованих мантійних гліоцитів, не спостерігалось підвищення рівнів креатиніну крові, які були подібними до контрольних показників. Застосування біологічно активних композицій, що містять нейротрофічні фактори, не призводить до нефротоксичних ефектів на підставі відсутності впливу на рівні сечовини крові. Кріоекстракт спінальних гангліїв і кондиціоновані середовища від культур нативних і кріоконсервованих мантійних гліоцитів впливає на підвищення рівня загального білка крові в щурів з інфравезикальною обструкцією. Більше того, кондиціоноване середовище від культури кріоконсервованих мантійних гліоцитів демонструє відсутність впливу на основні шляхи метаболізму креатиніну при обструктивній уропатії, що обумовлена інфравезикальною обструкцією. Отже, всі вищезазначені ефекти роблять можливим застосування біологічно активних композицій зі спінальних гангліїв при нирковій патології.

Ключові слова: обструктивна уропатія; спінальний ганглії; мантійні гліоцити; кріоекстракт; кріоконсервування; біохімічні показники крові

Вступ

Інфравезикальна обструкція (ІВО) викликає численні функціональні і морфологічні зміни в сечовидних шляхах, одним із проявів яких є обструктивна уропатія (ОУ) [1]. Тривала ОУ може призвести до ниркової недостатності (НН), яка на сьогодні є значущою соціальною та медичною проблемою [2]. Поширеність ОУ збільшується з віком і коливається від 5 до 30 % [3].

НН на тлі ОУ характеризується порушенням функції нирок зі зниженням швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) і ниркового кровотоку, прогресуючим нирковим інтерстиціальним фіброзом (НІФ) [4]. Наслідком цього є підвищення вмісту сечовини і креатиніну в крові, посилення процесів катаболізму білків [5].

Вважається, що при своєчасному усуненні обструкції процеси НІФ припиняються, нирки повністю відновлюють свою функцію і НН не розвивається [6]. Однак багато авторів вказує на підвищення індукції апоптозу в епітелії ниркових клубочків і каналців на ранніх термінах перебігу ОУ і формування порочного кола в розвитку НІФ [7]. Це може призвести до неповного відновлення ниркової функції після обструкції, сприяти розвитку НН на більш пізніх термінах вже за відсутності ОУ з подальшим розвитком термінальної стадії [8]. Лікування останньої стадії НН складається із замісної терапії хронічним діалізом і трансплантації нирки, які є далеко не ідеальними довгостроковими альтернативами [9]. Тому важливим завданням є раннє запобігання або уповільнення розвитку НІФ, для лікування якого на сьогодні не існує спеціальних методів.

Останнім часом з'явилися наукові праці про лікування захворювань нирок із використанням стовбурових клітин (СК), які шляхом впливу на регенеративний і репаративний потенціал можуть стимулювати структурне і функціональне відновлення нирок [10]. Інші дослідження показали, що більш значущий лікувальний вплив на виникнення і прогресування НІФ при ОУ можна отримати за допомогою безклітинних кондиціонованих середовищ (КС), що містять ростові фактори [11]. Так само при моделюванні захворювання нирок було виявлено, що екзогенні СК і фактори, які виділяються цими клітинами, можуть спричинити пошкодження нирок [12].

Існують дані, що нейротрофічні фактори (НФ), які були отримані з гліальної клітинної лінії, необхідні для розвитку парасимпатичних, кишкових і моторних нейронів, під час сперматогенезу і морфогенезу нирок, а також можуть бути факторами виживання пошкоджених ниркових клітин [13].

Багато НФ було ідентифіковано в спінальних гангліях (СГ) і в подальшому отримано з культур клітин, похідних нервового гребеня [14]. Однак досі існує недостатня кількість досліджень про можливість застосування НФ, отриманих із СГ, для корекції наслідків ОУ при ІВО.

Мета роботи — вивчення біохімічних показників крові самок щурів з інфравезикальною обструкцією після внутрішньочеревного введення біологічно ак-

тивних композицій (кріоекстракту спінальних гангліїв, базового середовища культивування, кондиціонованих середовищ, отриманих від культур нативних і кріоконсервованих мантійних гліоцитів) і кортексину.

Матеріали та методи

Для досліджень використовували безпородних білих щурів — самиць масою 250–320 г 6-місячного віку. Усі маніпуляції з тваринами проводилися відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.). При цьому дотримувалися вимог Комітету з біоетики Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків) та положення Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних чи інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Кріоекстракт отримували із СГ статевозрілих щурів шляхом 3-кратного заморожування в рідкому азоті з подальшою гомогенізацією і центрифугуванням [15]. Після цього кріоекстракт пропустили через фільтр із діаметром пор 0,22 μm (TPP, Швейцарія) із метою стерилізації. Потім кріоекстракт розфасували по 1,5 мл у мікропробірки епендорф (Greiner Bio-One GmbH, Німеччина) і заморожували в холодильнику при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Перед використанням кріоекстракт підігрівали на водяній бані ($42\text{ }^{\circ}\text{C}$) при безперервному струшуванні протягом 1–2 хвилин і центрифугували на мікроцентрифузі протягом 10 хвилин.

Базове середовище культивування (БСК) складалося з живильного середовища α -MEM із додаванням 10% фетальної телячої сироватки (BioSera, Франція) й антибіотиків: по 100 мкг/мл гентаміцину/цефотаксиму, і 2,5 мкг/мл амфотерицину В.

Культуру мантійних гліоцитів (МГ) отримували із СГ неонатальних поросят за методом [16]. Через 20 діб збирали кондиціоноване середовище (КС), з якого відбирали аліквоту по 0,2 мл і заморожували в холодильнику при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Частину культури МГ кріоконсервували під захистом 10% диметилсульфоксиду (ДМСО) зі швидкістю охолодження 1 град/хв до $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ при подальшому зануренні в рідкий азот. Клітини після підігрівання і відмивання від ДМСО культивували за методикою, подібною до вищезазначеної, із подальшим збиранням і заморожуванням КС.

ІВО моделювали за допомогою хірургічного методу. Щури були наркотизовані введенням комбінації золетилу 100 1,86 мг (Virbac, Франція) і седазину 1,92 мг (Biowet, Польща) у розрахунку на 100 г маси тіла тварини. Через зовнішній отвір сечівника проводилися катетеризація сечового міхура за допомогою судинного катетера (BD, Іспанія) із зовнішнім діаметром 1,0 мм. Накладання лігатури здійснювалося шляхом прошивання колючою голкою з шовковою ниткою 4/0 навколо дистального відділу сечівника [17]. Через 1,5 місяця лігатуру видаляли і на наступний день тваринам починали вводити внутрішньочеревно біологічно активні композиції (БАК) протягом 10 днів. Кріоекстракт СГ, БСК, КС, отримані від нативної і кріоконсервованої культур МГ, вводили

0,06 мл на 100 г маси тіла тварини. Кортексин вводили в дозі 1,0 мл/кг маси тіла [18]. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під наркозом на 56-ту добу. Зразки крові (5,0 мл) були взяті за допомогою пункції серця у вакуумні пробірки з активатором згортання (Vacusepa®, Туреччина). Зразки центрифугували на центрифугі (ОПН-3.04, Киргизія) при 1300 г протягом 10 хв й отриману плазму переносили у свіжі пробірки для біохімічного аналізу крові.

Стан білкового обміну оцінювали за концентрацією загального білка в плазмі крові. Рівні загального білка визначали біуретовим методом із застосуванням набору реактивів «Філісіт-Діагностика» (Україна) [19]. Концентрацію креатиніну і сечовини — показників екскреторної функції нирок визначали з використанням набору реактивів (Corgma, Польща) відповідно до інструкції фірми-виробника.

Тварин розподілили на групи: 1-ша — введення кріоекстракту СГ; 2-га — введення базового середовища культивування; 3-тя — введення кондиціонованого середовища від нативних МГ; 4-та — введення кондиціонованого середовища від кріоконсервованих МГ; 5-та — введення кортексину; 6-та — без лікування; 7-ма — контроль.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програмного забезпечення Excel (Microsoft, США) і Statistica 10 (Statsoft, США) за допомогою непараметричних методів. Дані подані у вигляді медіани і квартилей (першого і третього) (Me (Q1; Q3)). Вірогідність результатів оцінювали за допомогою U-тесту за методом Манна — Уїтні, відмінності вважали вірогідними при $p \leq 0,05$.

Результати

Вплив біологічно активних композицій, що містять нейротрофічні фактори на рівні загального білка, сечовини і креатиніну крові у самок щурів з інфравезикальною обструкцією, наведений у табл. 1.

Вимірювання маси щурів виявило її збільшення в 1–6-й групах на 60, 30, 32,5, 30, 45, 50 % (табл. 1, $p = 0,002$, $p = 0,01$, $p = 0,008$, $p = 0,024$, $p = 0,034$, $p = 0,00007$ відповідно) порівняно з контролем. При

цьому маса у 2, 3 і 7-й (контрольній) групах була меншою порівняно з 6-ю (без лікування) групою на 13,3, 11,6, 33,3 % (табл. 1, $p = 0,037$, $p = 0,01$, $p = 0,00007$ відповідно). Але різниці в масі між щурами в контрольній групі і щурами без лікування не було (табл. 1).

Кількість загального білка зростала на 51,5, 13,3, 29,9 в 1, 3, 4-й групах (табл. 1, $p = 0,003$, $p = 0,039$, $p = 0,04$ відповідно) порівняно з контролем. Далі було виявлено зниження рівня білка на 31,5 в 5-й групі (кортексин) порівняно з тваринами без лікування (6-та група) (табл. 1, $p = 0,02$). Цікаво, що при порівнянні груп із введенням кріоекстракту СГ (група 1) і КС від культури кріоконсервованих МГ (група 3) показники білка 1-ї групи були статистично вищими на 16,6 % (табл. 1, $p = 0,019$).

Аналіз змісту сечовини в крові у всіх групах показав відсутність статистично вірогідної різниці (табл. 1).

Рівні креатиніну крові зростали на 37,3, 13,5, 20,3, 20,3 в 1, 2, 3, 5-й групах (табл. 1, $p = 0,003$, $p = 0,008$, $p = 0,005$, $p = 0,026$ відповідно) порівняно з контролем. Далі було виявлено підвищення рівня креатиніну на 30,6, 8,1, 14,5 % в 1–3-й групах порівняно з тваринами без лікування (6-та група) (табл. 1, $p = 0,005$, $p = 0,048$, $p = 0,009$ відповідно). Різниця креатиніну крові щурів, яких лікували кріокомпозиціями, була статистично незначущою (табл. 1).

Обговорення

НН, як наслідок ОУ, на пізніх стадіях захворювання може бути пов'язана з втратою ваги в дорослих і зі значною затримкою розвитку в дітей [20]. У своїй роботі ми досліджували початковий період ОУ (1,5 місяця), який, за даними деяких авторів, не призводить до стійких порушень метаболізму і НН [21]. Було показано, що застосування НФ може покращувати розвиток у щурів зі зниженою нирковою масою і підвищувати чутливість до інших ростових факторів [22].

Прогресування ННФ при ОУ зменшує ШКФ і збільшує катаболізм білка, що приводить до втрати білка через нирки, погіршуючи перебіг НН [23]. Застосування СК, і більшою мірою безклітинних КС, може зменшувати протеїнурію і посилювати анаболізм білка

Таблиця 1. Показники загального білка, сечовини і креатиніну крові, отримані від інтактних щурів і щурів з ІВО після введення різних видів БАК і кортексину (Me (Q1; Q3)), $n = 57$

Показник	Кріоекстракт СГ (група 1, $n = 5$)	БСК (група 2, $n = 7$)	КС від культури нативних МГ (група 3, $n = 6$)	КС від культури кріоконсервованих МГ (група 4, $n = 4$)	Кортексин (група 5, $n = 5$)	Без лікування (група 6, $n = 15$)	Контроль (група 7, $n = 15$)
Маса тіла, г	320,0* (290,0; 320,0)	260,0*† (230,0; 280,0)	265,0* (230,0; 290,0)	260,0* (240,0; 280,0)	290,0* (210,0; 290,0)	300,0* (270,0; 310,0)	200,0† (190,0; 220,0)
Загальний білок, г/л	98,8*†† (91,9; 104,8)	74,2 (66,9; 90,5)	73,9*† (72,4; 76,4)	84,7*†† (77,0; 89,2)	50,1† (47,5; 64,4)	73,1 (63,9; 96,5)	65,2 (58,4; 72,3)
Сечовина, ммоль/л	4,1 (3,6; 4,5)	4,1 (3,9; 5,8)	4,9 (4,4; 5,4)	3,45 (3,3; 4,6)	4,0 (2,9; 5,3)	5,3 (4,3; 6,3)	4,6 (2,9; 5,9)
Креатинін, мг/дл	0,81*† (0,71; 0,82)	0,67*† (0,67; 0,81)	0,71*† (0,69; 0,74)	0,72 (0,6; 0,89)	0,71* (0,67; 0,71)	0,62 (0,54; 0,68)	0,59 (0,51; 0,64)

Примітки: * — відмінності значимі порівняно з контролем; † — з групою без лікування; †† — між групами кріоекстракту СГ і КС від культури кріоконсервованих МГ, $p < 0,05$. У дужках вказані квартилі (перший і третій).

у тварин в експерименті [24]. У нашому дослідженні виявлене підвищення рівня загального білка при використанні безклітинних КС і криоекстракту СГ, що містять НФ, підтверджують вищенаведені факти.

Сечовина крові є кінцевим продуктом катаболізму амінокислот або білків, які виробляються печінкою і розподіляються через кровообіг, а потім фільтруються ниркою. Рівні сечовини в плазмі чутливі до екстраренальних впливів. Визначення рівня сечовини в крові використовується для виявлення зниження функції нирок, що може відбуватися і при нормальних показниках сечовини [1]. Сечовина використовується для визначення нефротоксичного профілю ксенобіотиків [25]. Існують наукові праці, в яких у початковому періоді ОУ не було виявлено змін рівнів сечовини або креатиніну в сироватці крові [26]. Таким чином, з огляду на це не можна покладатися на рівні сечовини в сироватці крові як на ознаку пошкодження нирок у щурів. Є повідомлення, що НФ беруть участь в опосередкованні зростання, диференціації, виживанні і/або відновленні епітеліальних клітин ниркових каналців і процесах регуляції нирками кислотно-лужного стану [27]. Так само НФ й інші ростові фактори знижують рівні сечовини за рахунок зниження її синтезу, а не за рахунок поліпшення ниркової функції [20]. У нашій роботі даних про вплив БАК, що містять НФ, на підвищення вмісту сечовини в крові щурів з ІВО знайдено не було.

Креатинін є результатом катаболізму скелетних м'язів і виводиться через нирки. Зниження функції нирок може підвищити рівень креатиніну в крові в результаті порушення його екскреції [28]. У той же час зміна рівня креатиніну не обов'язково вказує на змінювання ШКФ і НН, а може бути наслідком особливостей харчування і коливань м'язової маси [29]. Однак підвищені рівні креатиніну в сироватці виявляються в половині всіх хворих з ІВО [30]. Існують наукові праці, в яких було показано, що в щурів на ранній стадії ОУ підвищення рівня креатиніну не відбувалося [31]. У той же час низка авторів показали, що при уремії на тлі НН екзогенні ростові фактори не знижували рівнів креатиніну в крові, незважаючи на ефективність цих методів у подоланні затримки розвитку, пов'язаної з НН [27]. За іншими нечисленними даними, терапія СК знижувала розвиток і прогресування експериментальної хронічної НН, що було підтверджено показниками ниркової функції, які зазвичай використовуються в клініці, в тому числі рівнем креатиніну, проявами НІФ, ступенем зниження ШКФ [7, 11]. Багато авторів відзначають, що оцінювання впливу терапії СК і безклітинними КС, що містять НФ, на хронічний обструктивний фіброз нирки і НН раніше не проводилося [32, 33]. У нашому дослідженні рівні креатиніну крові зростали у всіх групах, які отримували БАК, крім 4-ї (введення КС від культури криоконсервованих МГ), порівняно з контролем. При цьому креатинін у групах із введенням криоекстракту СГ (група 1), БСК (група 2) і КС від культури нативних МГ (група 3) був значимо вищим, ніж у щурів без лікування (група 6). Цікаво, що

дані зміни залежали від маси тіла щурів з ІВО, яким вводилися БАК із НФ, порівняно з контролем. У той же час цього не спостерігалось при порівнянні з щурами без лікування (група 6) за відсутності різниці у вазі між останніми і контролем. Усе вищезазначене вказує на вплив БАК, отриманих із СГ, на рівні креатиніну щурів з ІВО, що може бути пов'язано з дією інших факторів, а не нейротрофінів. Отже, якщо ми хочемо уникнути побічних ефектів, що впливають на рівні креатиніну, то необхідно застосовувати КС від культури криоконсервованих МГ.

Висновки

1. При експериментальній ІВО у щурів приріст маси тіла був найбільш вираженим у групі введення криоекстракту СГ.
2. Введення БАК, отриманих із СГ, стимулювало синтез білка, що зазвичай знижується при ІВО внаслідок розвитку протейнурії і збільшення катаболічних процесів при ОУ і НН.
3. Використання всіх БАК не викликало підвищення рівнів сечовини в крові, а значить, не призводило до нефротоксичних ефектів. При цьому спостерігалася тенденція зниження рівнів сечовини в груп, яким вводилися БАК, при порівнянні з тваринами без лікування.
4. Застосування КС від культури криоконсервованих МГ не підвищувало рівнів креатиніну в крові на відміну від інших БАК, що демонструє відсутність значного впливу на основні шляхи метаболізму креатиніну при ОУ, що обумовлена ІВО. Це дає можливість застосування цих КС, які містять НФ, при порушенні ниркової функції.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

Інформація про внесок кожного автора: Глоба В.Ю. — дизайн дослідження, збір та обробка матеріалів, аналіз отриманих даних; Божок Г.А. — концепція дослідження; Самбург Я.Ю. — написання тексту; Легач Є.І. — оформлення списку використаних джерел.

Список літератури

1. Zuhirman Zamzami. Blood urea and creatinine levels in obstructive uropathy patients due to benign prostate hyperplasia after transurethral resection of the prostate. *Int. J. Surg. Med.* 2019. 5(1). P. 18-22. doi:10.5455/ijsm.
2. Wilson D.R. Pathophysiology of obstructive nephropathy. *Kidney International [Internet].* 2015 Dec 18 [cited 2020, Jan 12]. 18(3). P. 281-292. Available from: <https://doi.org/10.1038/ki.1980.138>.
3. Iqbal S., Raiz I., Faiz I. Bilateral hydronephrosis with a hypertrophied, trabeculated urinary bladder. *Malays J. Med. Sci.* 2017. 24(2). P. 106-115. Available from: <https://doi.org/10.21315/mjms2017.24.2.14>.
4. Chevalier R.L. Pathogenesis of renal injury in obstructive uropathy. *Curr. Opin. Pediatr.* 2006. 18(2). P. 153-160. doi:10.1097/01.mop.0000193287.56528.a4.

5. Rayner H., Thomas M., Milford D. *Understanding Kidney Diseases*. Cham (Switzerland): Springer International Publishing, 2016. 300 p.
6. Smith D.R., Tanagho E.A., McAninch J.W., Lue T.F. *Smith and Tanagho's general urology*. 18th ed. New York (USA): McGraw-Hill Medical, 2013. 758 p.
7. Oka M., Sekiya S., Sakiyama R., Shimizu T., Nitta K. Hepatocyte growth factor-secreting mesothelial cell sheets suppress progressive fibrosis in a rat model of CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2019. 30(2). P. 261-276. doi: 10.1681/ASN.2018050556.
8. Chaabane W., Pradaud F., Buleon M. et al. Renal functional decline and glomerulotubular injury are arrested but not restored by release of unilateral ureteral obstruction (UUO). *Am. J. Physiol. Ren. Physiol.* 2013. 304(4). P. 432-439. doi: 10.1152/ajprenal.00425.2012.
9. Ruiz E., Ferraris J. 25 years of live related renal transplantation in children: the Buenos Aires experience. *Indian J. Urol. [Internet]*. 2007 [cited 2020, Feb 17]. 23(4). P. 443-451. Available from: <http://www.indianjurol.com/text.asp?2007/23/4/443/36720>.
10. Papazova D.A., Oosterhuis N.R., Gremmels H., van Koppen A., Joles J.A., Verhaar M.C. Cell-based therapies for experimental chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Disease Models & Mechanisms*. 2015. 8(3). P. 281-293. doi: 10.1242/dmm.017699.
11. Sugandhi N., Srinivas M., Agarwala S. et al. Effect of stem cells on renal recovery in rat model of partial unilateral upper ureteric obstruction. *Pediatr Surg. Int.* 2014. 30(2). P. 233-238. doi: 10.1007/s00383-013-3456-8.
12. Asanuma H., Vanderbrink B.A., Campbell M.T. et al. Arterially delivered mesenchymal stem cells prevent obstruction-induced renal fibrosis. *J. Surg. Res.* 2011. 168(1). P. 51-59. doi: 10.1016/j.jss.2010.06.022.
13. Tsui C.C., Shankland S.J., Pierchala B.A. Glial cell line-derived neurotrophic factor and its receptor ret is a novel ligand-receptor complex critical for survival response during podocyte injury. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2006. 17(6). P. 1543-1552. doi: 10.1681/asn.2005080835.
14. Verge V.M., Gratto K.A., Karchewski L.A., Richardson P.M. Neurotrophins and nerve injury in the adult. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 1996. 351(1338). P. 423-30. doi: 10.1098/rstb.1996.0038.
15. Пат. 64381 А Україна, МПК⁷ А61К35/12. Спосіб отримання екстрактів ксеногенних органів. Гальченко С.Є., Шкодовська Н.Ю., Сандомирський Б.П., Грищенко В.І.; Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. № 2003054649; заявл. 22.05.2003; опубл. 16.02.2004. Бюл. № 2.
16. Алі С., Сидоренко О., Божок Г. Вплив складу живильного середовища на морфологічні характеристики культури клітин спінальних гангліїв неонатальних поросят. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія»*. 2018. 30(30). P. 49-59. doi: <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2018-30-6>.
17. Zhang N.Z., Ma L., Zhang J.B., Chen J. Improved model for the establishment and evaluation of detrusor overactivity in female Wistar rats. *Int. Braz. J. Urol.* 2014. 40(3). P. 414-422. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.03.17.
18. Шавловская О.А. Клиническая эффективность нейропептидов при цереброваскулярной патологии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016. 116(8). P. 88-93. doi: 10.17116/jnevro20161168188-93.
19. Горячковский А.М. *Клиническая биохимия в лабораторной диагностике*. Одесса: Экология, 2005. 616 с.
20. Hazel S.J., Gillespie C.M., Moore R.J., Clark R.G., Jureidini K.F., Martin A.A. Enhanced body growth in uremic rats treated with IGF-I and growth hormone in combination. *Kidney International*. 1994. 46(1). P. 58-68. doi: 10.1038/ki.1994.244.
21. Levin R., Chichester P., Levin S., Buttyan R. Role of angiogenesis in bladder response to partial outlet obstruction. *Scand J. Urol. Nephrol. Suppl.* 2004. 38(215). P. 37-47. doi: 10.1080/03008880410015156.
22. Barnett M.W., Fisher C.E., Perona-Wright G., Davies J.A. Signalling by glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) requires heparan sulphate glycosaminoglycan. *J. Cell. Sci.* 2002. 115(23). P. 4495-503. doi: 10.1242/jcs.00114.
23. Emeigh Hart S.G. Assessment of renal injury in vivo. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2005. 52(1). P. 30-45. doi: 10.1016/j.vascn.2005.04.006.
24. Asanuma H., Vanderbrink B.A., Campbell M.T. et al. Arterially delivered mesenchymal stem cells prevent obstruction-induced renal fibrosis. *J. Surg. Res.* 2011. 168(1). P. 51-59. doi: 10.1016/j.jss.2010.06.022.
25. Owoade A.O., Adetulu A., Olorunnisola O.S. Hematological and biochemical changes in blood, liver and kidney tissues under the effect of tramadol treatment. *J. Alcohol. Drug. Depend.* 2019. 7(5). P. 1-7.
26. Tucci Junior S., Molina C.A.F., Cassini M.F., Andrade M.F. de, Lima G.J. de, Martins A.C.P. Chronic partial urethral obstruction in female rats: description of an experimental model and initial results. *Acta Cirurgica Brasileira [Internet]*. 2011. 26. Suppl. 2. P. 111-114. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/acb/v26s2/a20v26s2.pdf>.
27. Good D.W., Thampi G. Neurotrophin-3 inhibits HCO₃-absorption via a cAMP-dependent pathway in renal thick ascending limb. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2001. 281(6). P. 1804-1811. doi: 10.1152/ajpcell.2001.281.6.C1804.
28. Lin S., Lian D., Liu W. et al. Daily therapy with a slow-releasing H₂S donor GYY4137 enables early functional recovery and ameliorates renal injury associated with urinary obstruction. *Nitric Oxide*. 2018. 76. P. 16-28. doi: 10.1016/j.niox.2018.03.002.
29. Kaid F., Alabsi A.M., Alafifi N. et al. Histological, biochemical, and hematological effects of Goniothalamin on selective internal organs of male Sprague-Dawley rats. *Journal of Toxicology [Internet]*. 2019 [cited 2020, Feb 17]. Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/6493286>.
30. Speakman M.J., Cheng X. Management of the complications of BPH/BOO. *Indian J. Urol. [Internet]*. 2014 [cited 2020, Feb 17]. 30. P. 208-213. Available from: <http://www.indianjurol.com/text.asp?2014/30/2/208/127856>.
31. Zhang Z.H., He J.Q., Qin W.W., Zhao Y.Y., Tan N.H. Biomarkers of obstructive nephropathy using a metabolomics approach in rat. *Chem. Biol. Interact.* 2018. 296. P. 229-239, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.10.004>.
32. Ronco C. *Contributions to Nephrology*. Basel (Switzerland): Karger, 2011. 372 p. (Herrera G.A., editor. *Experimental models for renal diseases: pathogenesis and diagnosis*. Vol. 169).
33. Orth S.R., Ritz E., Suter-Crazzolara C. Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) is expressed in the human kidney and is a growth factor for human mesangial cells. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000. 15(5). P. 589-595. doi: 10.1093/ndt/15.5.589.

Отримано/Received 04.02.2020

Рецензовано/Revised 20.02.2020

Прийнято до друку/Accepted 02.03.2020

Глоба В.Ю.¹, Самбург Я.Ю.², Божок Г.А.¹, Легач Е.И.¹

¹ Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України, г. Харків, Україна

² Харківська медична академія післядипломного образования, г. Харків, Україна

Биохимические показатели крови крыс с инфравезикальной обструкцией при введении биологически активных композиций, содержащих нейротрофические факторы

Резюме. Существует много урологических заболеваний, которые сопровождаются инфравезикальной обструкцией. При этом развивается обструктивная уропатия, которая может приводить к почечной недостаточности с последующей инвалидизацией и гибелью больных. В настоящее время не существует методов лечения, альтернативных хроническому гемодиализу и трансплантации почки, которые способствуют структурному и функциональному восстановлению почек. Исследовали биохимические показатели крови (уровни общего белка, мочевины, креатинина) после введения биологически активных композиций, содержащих нейротрофические факторы, у самок крыс с инфравезикальной обструкцией. Экспериментальную модель получали путем наложения лигатуры на дистальный отдел мочевого тракта. В качестве биологически активных композиций использовали криоэкстракт спинальных ганглиев, кондиционированные среды от культур нативных и криоконсервированных мантийных глиоцитов, базовую среду культивирования, кортексин. Биологически активные композиции вводили животным внутривентрально на протяжении 10 дней. Определяли показатели белкового и азотистого обменов. Применение всех биологически активных композиций не вызывало повышения уровней мочевины в крови. При этом криоэкстракт спинальных ганглиев и кондиционированные среды от культур нативных и криоконсервированных мантийных

глиоцитов повышали уровни общего белка на 51,5, 13,3, 29,9 % соответственно по сравнению с показателями контрольных животных. Только у крыс с инфравезикальной обструкцией, которым вводилась кондиционированная среда от культуры криоконсервированных мантийных глиоцитов, не наблюдалось повышение уровней креатинина крови, показатели которого были сходными с контрольными. Использование биологически активных композиций, содержащих нейротрофические факторы, не приводит к нефротоксическим эффектам на основании отсутствия влияния на уровни мочевины крови. Криоэкстракт спинальных ганглиев и кондиционированных сред от культур нативных и криоконсервированных мантийных глиоцитов оказывает влияние на повышение уровня общего белка крови у крыс с инфравезикальной обструкцией. Более того, кондиционированная среда от культуры криоконсервированных мантийных глиоцитов демонстрирует отсутствие влияния на основные пути метаболизма креатинина при обструктивной уропатии, обусловленной инфравезикальной обструкцией. Следовательно, все вышеперечисленные эффекты делают возможным применение биологически активных композиций из спинальных ганглиев при почечной патологии.

Ключевые слова: обструктивная уропатия; спинальный ганглий; мантийные глиоциты; криоэкстракт; криоконсервирование; биохимические показатели крови

V.Yu. Globa¹, Ya.Yu. Samburg², G.A. Bozhok¹, E.I. Legach¹

¹ Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

² Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

Biochemical blood parameters of rats with infravesical obstruction with the introduction of biologically active compositions containing neurotrophic factors

Abstract. Infravesical obstruction occurs in many urological diseases. At the same time, obstructive uropathy develops, which can lead to renal failure with subsequent disability and death of patients. Currently, treatment methods alternative to chronic hemodialysis and kidney transplantation that contribute to the structural and functional restoration of the kidneys have not been found. Biochemical parameters of the blood (levels of total protein, urea, and creatinine) were investigated in female rats with infravesical obstruction after the administration of biologically active compositions, which contain neurotrophic factors. An experimental model was obtained by applying a ligature to the distal urinary tract. Spinal ganglia cryoextract, conditioned media from native and cryopreserved cultures of satellite cells, basic culture medium, and cortixin were used as biologically active compositions. Biologically active compositions were administered to animals intraperitoneally for 10 days. The indicators of protein and nitrogen metabolism were determined. The use of all biologically active compositions did not increase blood urea levels. At the same time, spinal ganglia cryoextract and conditioned media from native and cryopreserved cul-

tures of satellite cells increased the levels of total protein by 51.5, 13.3 and 29.9 %, respectively, compared with the indices of control animals. Only rats with infravesical obstruction, who were injected with conditioned medium from the culture of cryopreserved satellite cells, did not show an increase in blood creatinine levels, the indices of which were similar to the control ones. The introduction of biologically active compositions containing neurotrophic factors does not lead to nephrotoxic effects due to the lack of influence on blood urea levels. Spinal ganglia cryoextract and conditioned media from native and cryopreserved cultures of satellite cells have an effect on increasing the level of total blood protein in rats with infravesical obstruction. Moreover, the conditioned medium from the culture of cryopreserved satellite cells demonstrates the absence of influence on the main pathways of creatinine metabolism in obstructive uropathy due to infravesical obstruction. Therefore, all of the above effects make it possible to use biologically active compositions from the spinal ganglia in the presence of renal pathology.

Keywords: obstructive uropathy; spinal ganglion; satellite cells; cryoextract; cryopreservation; biochemical parameters of the blood