



Неоваскулген® и Ботокс® в сравнительном анализе влияния на структуру и функцию мочевого пузыря при интерстициальном цистите (экспериментальное исследование)

© Михаил И. Коган¹, Игорь И. Белоусов¹, Алена А. Матичина²,
Александр А. Матичин², Екатерина В. Беляева²

¹ Ростовский государственный медицинский университет [Ростов-на-Дону, Россия]

² Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ» [Кузьмоловский, Ленинградская область, Россия]

Аннотация

Введение. Интерстициальный цистит (ИЦ), являясь хроническим неинфекционным заболеванием, до сих пор имеет неясную этиологию и многочисленные патофизиологические теории развития. Это определяет необходимость проведения доклинических экспериментальных исследований на животных. Наиболее тождественной моделью ИЦ человека является циклофосфамид-индуцированный цистит у грызунов.

Цель исследования. Изучение эффектов фармакологической активности препарата Неоваскулген® в сравнении с препаратом Ботокс® на модели ИЦ у крыс, вызванного циклофосфамидом.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 90 самках крыс линии Wistar. Индукция ИЦ проведена препаратом Эндоксан®. В качестве терапевтических средств применяли препараты Неоваскулген® и Ботокс®. Эффективность оценивали сравнительным анализом уродинамических паттернов и морфологически. Полученные данные обрабатывали параметрическими и непараметрическими методами статистического анализа.

Результаты. Индуцированный ИЦ развился у всех животных. Оба препарата статистически значимо улучшили изучаемые уродинамические показатели, клиническая эффективность Неоваскулген® была сравнима с Ботоксом®. Морфологическая оценка показала, что введение исследуемых препаратов сопровождалось снижением отёка тканей, меньшей выраженностью кровоизлияний и очаговой лимфогистиоцитарной инфильтрации, а также деструктивных изменений слизистой мочевого пузыря. При этом интенсивность патологических тканевых процессов на фоне введения Неоваскулгена® была наименьшей.

Заключение. Модель циклофосфамидного ИЦ считается наиболее адекватной ИЦ человека. Проведённый эксперимент крайне важен для изучения эффективности нового лекарственного препарата, которым является Неоваскулген®. Препарата показал свою эффективность в снижении частоты мочеиспусканий и внутрипузырного давления. Внутридетрузорное введение уменьшает остроту воспалительной реакции тканей мочевого пузыря.

Ключевые слова: интерстициальный цистит; циклофосфамид-индуцированный цистит; экспериментальный цистит; Неоваскулген; Эндоксан; Ботокс; уродинамика; иммуногистохимия; рецепторы к ЦОГ-2, EP4

Финансирование. Исследование выполнено в рамках договорных обязательств между АО «НПО «Дом фармации» и АО «НекстГен» (Договор 0298-ДФ/2021 от 24 ноября 2021 года). **Раскрытие интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Этическое одобрение.** Исследование одобрено локальной независимой биоэтической комиссией АО «НПО «Дом фармации» (Заключение №БЭК 2.60/21 от 08 декабря 2021 года). **Этическое заявление.** Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейским парламентом и Советом Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях, Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (CETS 123), в соответствии с Решением Совета ЕЭК № 81 от 03 ноября 2016 года «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств».

Вклад авторов. М.И. Коган — научное руководство, критический обзор, научное редактирование, утверждение текста рукописи; И.И. Белоусов — обзор литературы, анализ данных, критический обзор, написание и редактирование текста рукописи; А.А. Матичина, А.А. Матичин — концепция и дизайн исследования, обзор литературы, разработка и проведение эксперимента, анализ данных, статистическая обработка данных; Е.В. Беляева — сбор и работа с биологическим материалом, гистологическое исследование, иммуногистохимический анализ и интерпретация результатов, анализ данных.

✉ **Корреспондирующий автор:** Игорь Иванович Белоусов; belrost_dept@mail.ru

Поступила в редакцию: 10.02.2025. **Принята к публикации:** 09.09.2025. **Опубликована:** 26.12.2025.

Для цитирования: Коган М.И., Белоусов И.И., Матичина А.А., Матичин А.А., Беляева Е.В. Неоваскулген® и Ботокс® в сравнительном анализе эффективности лечения интерстициального цистита (экспериментальное исследование). *Вестник урологии.* 2025;13(6):27-40. DOI: 10.21886/2308-6424-2025-13-6-27-40.

Comparison of Efficacy of Neovasculgen® and Botox® in the treating Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome: experimental study

© Mikhail I. Kogan¹, Igor I. Belousov¹, Alena A. Matichina², Aleksandr A. Matichin², Ekaterina V. Belyaeva²

¹ Rostov State Medical University [Rostov-on-Don, Russia]

² RMC «HOME OF PHARMACY» [Kuzmolovsky sett., Leningrad region, Russia]

Abstract

Introduction. Interstitial cystitis/bladder pain syndrome (IC/BPS), being a chronic non-infectious disease, still has an unclear etiology and numerous pathophysiological theories of development. This determines the need for preclinical experimental studies on animals. The most identical model of human IC/BPS is cyclophosphamide-induced cystitis in rodents.

Objective. To study the effects of the pharmacological activity of Neovasculgen® compared to Botox® using model of cyclophosphamide-induced IC/BPS in rats.

Materials & methods. The study was performed on 90 female Wistar rats. IC/BPS was induced by Endoxan®. Neovasculgen® and Botox® were used as intradetrusor therapeutic agents. Efficiency was assessed by comparative analysis of urodynamic patterns and morphologically. The data obtained were processed by parametric and nonparametric methods of statistical analysis.

Results. Cyclophosphamide-induced IC/BPS developed in all animals. Both drugs statistically significantly improved the studied urodynamic parameters, the clinical efficacy of Neovasculgen® was comparable to Botox®. Morphological assessment showed that the administration of the studied drugs was accompanied by a decrease in tissue edema, less pronounced hemorrhages and focal lymphohistiocytic infiltration, as well as destructive changes in the bladder mucosa. At the same time, the intensity of pathological tissue processes against the background of the administration of Neovasculgen® was the lowest.

Conclusions. The cyclophosphamide-induced IC/BPS model is considered the most adequate human IC/BPS. The experiment is extremely important for studying the effectiveness of a new drug, which is intradetrusor Neovasculgen®. The drug has shown its effectiveness in reducing the frequency of urination and intravesical pressure. Intradetrusor administration reduces the severity of the inflammatory reaction of bladder tissue.

Keywords: interstitial cystitis; cyclophosphamide-induced cystitis; experimental cystitis; Neovasculgen; Endoxan; Botox; urodynamics; immunohistochemistry; receptors for COX-2, EP4

Financing. The study was conducted in accordance with the contractual obligations between RMC «HOME OF PHARMACY» and JSC «Nextgen» (contract No. 0298-ДФ/2021 of November 24, 2021). **Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest. **Ethical approval.** The study was approved by the Bioethical Commission of the RMC «HOME OF PHARMACY» (conclusion No. BEC 2.60/21 Of December 08, 2021). **Ethical statement.** The study was designed according to the ethical standards for the treatment of animals set forth by the European Parliament and the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (CETS 123), in accordance with the Decision of Council of the Eurasian Economic Commission of November 3, 2016 No. 81 "About approval of Rules of proper laboratory practice of the Eurasian Economic Union in the field of drug circulation".

Authors' contribution: M.I. Kogan — scientific editing, critical review, manuscript approval; I.I. Belousov — data analysis, literature review, critical review, drafting and editing the manuscript; A.A. Matichina, A.A. Matichin — study concept, study design development, literature review, experiment design and implementation, data analysis, statistical data processing; E.V. Belyaeva — data acquisition, biological material processing, histological studies, immunohistochemical analysis, data analysis.

✉ **Corresponding author:** Igor I. Belousov; belrost_dept@mail.ru.

Received: 10.02.2025. **Accepted:** 09.09.2025. **Published:** 26.12.2025.

For citation: Kogan M.I., Belousov I.I., Matichina A.A., Matichin A.A., Belyaeva E.V. Comparison of Efficacy of Neovasculgen® and Botox® in the treating interstitial cystitis (experimental study). *Urology Herald*. 2025;13(6):27-40. (In Russ.). DOI: 10.21886/2308-6424-2025-13-6-27-40.

Введение

Интерстициальный цистит (ИЦ) является собою неинфекционное хроническое заболевание с симптомами мочепузырной боли и нижних мочевых путей [1]. Основные причины ИЦ остаются неизвестными, а патофизиологические теории его раз-

вития многочисленны: повышение уротелиальной проницаемости, воспаление, хронический стресс, аутоиммунная сенсибилизация [2 – 4].

Для исследования новых методов лечения ИЦ были разработаны доклинические модели на животных [5, 6]. Некоторые

из этих моделей позволяют имитировать основные симптомы и признаки ИЦ [7, 8]. Вместе с тем, принимая во внимание сложность и недоизученность патофизиологии ИЦ, ни одна модель не способна в полной мере воспроизвести все аспекты возникновения и развития заболевания. Так или иначе, считается, что сенсорная гиперчувствительность аfferентных нервов мочевого пузыря и воспаление его стенки на всю толщу являются основными патофизиологическими факторами, презентующими симптомы и постепенное уменьшение объема мочевого пузыря за счёт фиброзирования его стенки [9].

Известен широкий спектр методов лечения, направленных на купирование симптомов и их прогрессию. Отсюда и множество моделей ИЦ на животных с испытанием различных препаратов и их комбинаций [10]. Так, в последние годы были проведены исследования с внутрипузырными введениями препарата ботулинического токсина типа А, гиалуроновой кислоты, аутоплазмы, обогащённой тромбоцитами, причём на модели циклофосфамид-индуцированного цистита [6, 11 – 13]. Именно она стала наиболее используемой моделью воспроизведения ИЦ, будучи предложенной T. Sakata et al. в 1989 году (acrolein — активный метаболит cyclophosphamide) [14].

В дальнейшем группа D.E. Bjorling et al. (2007) опубликовала результаты исследований на мышах, которые подтвердили выводы T. Sakata et al. (1989) о том, что введение циклофосфамида грызунам вызывает острый геморрагический цистит, постепенно снижающий ёмкость мочевого пузыря за счёт некроза и фиброза тканей стенки органа [14, 15].

Таким образом, было постулировано, что использование данной модели является валидным инструментом для моделирования элементов такой патологии, как ИЦ.

Так как лечение ИЦ в настоящий момент остаётся нерешенной задачей, то продолжают разрабатываться новые различные варианты лечения этой патологии, в том числе с применением продуктов биотехнологии.

Препарат Неоваскулген® (АО «НекстГен», Россия) — высококачественная сверхскрученная плазмида pCMV-VEGF165, кодирующая эндотелиальный фактор роста сосудов под контролем промотора (управ-

ляющего участка ДНК). При проникновении молекул плазмида внутрь клеток млекопитающих происходит выработка фактора роста эндотелия сосудов (VEGF; англ. *Vascular endothelial growth factor*), что приводит к росту кровеносных сосудов (васкуляризации) в области введения. Проникновение плазмида внутрь клеток является спонтанным процессом, причём размножаться в клетках млекопитающих плазмидная ДНК не может. Особенностью сверхскрученной кольцевой ДНК является чувствительность к разрыву одной из 9116 фосфодиэфирных химических связей. Молекула ДНК с единственной разорванной связью теряет сверхчувствительность, переходя в релаксированную кольцевую форму (родственное соединение) [16].

Препарат создан в качестве лечебного средства в популяции пациентов с многоэтажным поражением артерий нижних конечностей, дистальной формой атеросклероза, в том числе в сочетании с диабетической ангиопатией, то есть в случаях, когда стандартная реваскуляризация по поводу окклюзионного поражения периферических артерий не может быть проведена [17].

Целью исследования является изучение эффектов фармакологической активности препарата Неоваскулген® в сравнении с препаратом Ботокс® (Allergan Pharmaceuticals, Westport, Ireland) на модели ИЦ у крыс, вызванного циклофосфамидом.

Материалы и методы

Данное исследование было рассмотрено биоэтической комиссией АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» и одобрено для проведения (БЭК № 2.60/21 от 08 декабря 2021 года).

Животные и их содержание. Крысы Wistar, самки 164 – 230 граммов в возрасте 6 – 8 недель на начало эксперимента, всего 90 голов (питомник АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Россия). Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях, и Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных в контролируемых условиях окружающей среды, корма и водопоя *ad libitum*.

Таблица 1. Характеристика исследуемого материала

№ группы (n)	Объект введения	Путь и схема введения	Доза
1 (10)	Интактные животные	—	—
2 (10)	ИЦ + вода для инъекций	—	—
3 (10)	—	—	5 мкг/кг + 30 ЕД/кг
4 (10)	ИЦ + Неоваскулген® + Ботокс®	—	20 мкг/кг + 30 ЕД/кг
5 (10)	—	Однократно внутридетрузорно	80 мкг/кг + 30 ЕД/кг
6 (10)	—	на 2-й день эксперимента	5 мкг/кг
7 (10)	ИЦ + Неоваскулген®	—	20 мкг/кг
8 (10)	—	—	80 мкг/кг
9 (10)	ИЦ + Ботокс®	—	30 ЕД/кг

Таблица 2. График проведения процедур исследования

Манипуляции	Дни эксперимента
Регистрация массы тела	Ежедневно
Введение Эндоксана®	1-й, 4-й и 7-й
Введение препаратов Неоваскулген®, Ботокс® и их комбинации	2-й
Клиническое наблюдение	Ежедневно
Цистометрия	8-й
Эвтаназия	8-й

Эвтаназию проводили с помощью диоксида углерода с последующим удалением жизненно важных органов.

Индукция ИЦ. Для моделирования экспериментального цистита (ЭЦ) у крыс использовали внутрибрюшинное введение препарата Эндоксан® (Baxter Oncology GmbH, Halle (Westfalen), Germany; МНН — циклофосфамид). Учитывая тот факт, что однократное введение циклофосфамида вызывает острые изменения в структуре тканей мочевого пузыря, после чего у грызунов отмечается восстановление функциональности органа, хронического течения цистита достигали за счёт многократного введения индуктора [18, 19].

Препарат вводили внутрибрюшинно один раз в три дня, всего 3 введения (табл. 2), в дозе 100 мг/кг. В день введения индуктора 200 мг Эндоксана® смешивали с 20 мл раствора NaCl 0,9%. Для крысы массой тела 200 г объём введения составлял 2 мл, что не превышало максимально допустимых значений для данного вида животных [20].

Экспериментальная терапевтическая схема. Исследование носило сравнительный характер с эскалацией дозы Неоваскулгена® в сравнении с препаратом Ботокс® (Allergan Pharmaceuticals, Westport, Ireland) и их комбинации. Дизайн исследования и график манипуляций представлены в таблицах 1 и 2.

Процедура введения препаратов в мочевой пузырь крыс. Неоваскулген® и Ботокс® вводили в виде свежеприготовленного раствора. Животным групп 2 – 9 осуществляли внутридетрузорное введение препаратов в асептических условиях. Использовали комбинированную внутривенную анестезию (Трамадол в дозе 12,5 мг/кг + Пропофол в дозе 10 мг/кг). Внутридетрузорное введение препарата осуществляли после обеспечения полного хирургического доступа к мочевому пузырю классическим способом по белой линии живота. Фиксацию мочевого пузыря производили на пинцетах, после чего с внешней стороны органа внутридетрузорно вводили Неоваскулген®, Ботокс® или их сочетание методом последовательных инъекций в рандомные места по 10 – 15 мкл до достижения соответствующей дозы исследуемых объектов с помощью шприца-дозатора Hamilton объёмом 50 мкл (рис. 1).

Введение конкретной дозы препаратов в каждой группе осуществляли путём определённого количества инъекций: для препарата Неоваскулген® в дозах 5 мкг/кг и 20 мкг/кг — 1 инъекция; в дозе 80 мкг/кг — 4 инъекции; для препарата Ботокс® — 3 инъекции. В группах 3 и 4 с комбинированным введением препаратов количество инъекций составило 4, а в группе 5 — 7 инъекций. Животным группы 2 выполняли

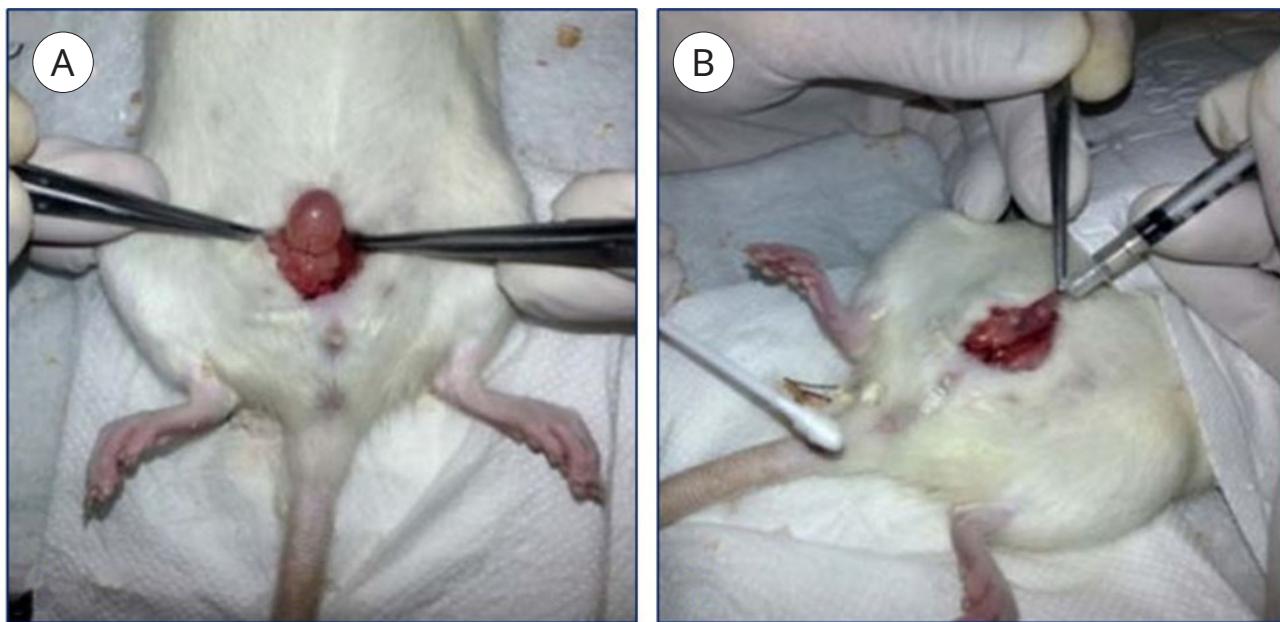


Рисунок 1. Методика внутридetrузорного введения: А — выделение и фиксация мочевого пузыря; В — непосредственно введение препарата

7 инъекций воды для инъекций в качестве контрольного вещества.

Интактным животным выполняли только лапаротомию. Всем животным обеспечивали обогрев и индивидуальное послеоперационное содержание.

Цистометрия. Для сравнительной оценки функционального состояния детрузора от каждой из групп произвольным образом отбирали по 6 животных для выполнения цистометрии. Из них были исключены модели, у которых в результате формирования патологии мочевые пузыри были заполнены сгустками крови, что препятствовало регистрации показателей цистометрии. Таким образом, цистометрии подверглись следующие группы:

— группа 2 — 4 животных (гибель одного животного, второе имело сгустки крови в мочевом пузыре);

— группа 4 — 5 животных (одно животное со сгустками крови в мочевом пузыре);

— группа 5 — 5 животных (гибель одного животного);

— группа 6 — 5 животных (одно животное со сгустками крови в мочевом пузыре);

— группа 7 — 4 животных (гибель одного животного, второе имело сгустки крови в мочевом пузыре);

— группа 8 — 3 животных (гибель 4 животных, три имели сгустки в мочевом пузыре).

Для измерения давления использовали

калиброванное оборудование в следующей комплектации: MLT844 Physiological Pressuer Transducer (ADInstruments Ltd., Sydney, Australia) + MLAC20 Interface Cable for MLT844 Physiological Pressuer Transducer (ADInstruments Ltd., Sydney, Australia) + Bridge Amp FE221 (ADInstruments Ltd., Sydney, Australia), которое подключали к регистратору PowerLab 8/30 ML 870/P (ADInstruments Ltd., Colorado Springs, CO, USA). Запись данных осуществляли с помощью программного обеспечения LabChart6 (ADInstruments Ltd., Colorado Springs, CO, USA).

Животных вводили в наркоз путём ингаляционной анестезии (Изоник 1000 мг/г при 3%-м содержании изофлурана + 5 мл/ч кислород), после чего обеспечивали доступ к мочевому пузырю, проводили цистотомию, в полость мочевого пузыря вводили патрубок Tubing-PE 50 Catheter SP0109, (AD Instruments, Colorado Springs, CO, USA) с небольшой манжеткой. Для фиксации трубы накладывали кисетный шов вокруг трубы для герметичности мочевого пузыря (рис. 2).

Свободный конец трубы подсоединяли к аппаратуре для регистрации давления через 3-ходовой медицинский клапан. Также к клапану с помощью трубы подсоединяли шприц, заполненный физиологическим раствором и подключённый к инфузионному насосу BYZ-810 (Changsha Beyond Medical Devices Co. Ltd., Changsha



Рисунок 2. Катетеризированный мочевой пузырь крысы

Yuelu District High Tech Park, Hunan Province, PRC). Регистрацию давления в мочевом пузыре осуществляли при постоянном наполнении со скоростью 100 мкл/мин. (6 мл/час) на протяжении 10 минут (рис. 3).

В результате анализа полученных данных рассчитывали следующие показатели:

- базовое внутрипузырное давление (давление после мочеиспускания);
- максимальное внутрипузырное давление во время мочеиспускания;

— частота мочеиспусканий (количество мочеиспусканий за исследование).

Оценка состояния животных. Оценку состояния животных осуществляли по показателям общего клинического наблюдения при осмотре в клетке, на открытой площадке и при взятии в руки, а также при регистрации изменения массы тела.

В конце экспериментальной части, а именно перед цистометрией, регистрировали гибель животных, непосредственной причиной которой стала острая сердечная недостаточность: группа 2 (ИЦ + вода для инъекций) — 1 самка; группа 5 (ИЦ + Неоваскулген® + Ботокс® в дозе 80 мкг/кг + 30 ЕД/кг) — 1 самка; группа 7 (ИЦ + Неоваскулген® в дозе 20 мкг/кг) — 1 самка; группа 8 (ИЦ + Неоваскулген® в дозе 80 мкг/кг) — 4 самки.

Морфологические исследования биологического материала. Морфологические исследования, световая микроскопия с окраской гематоксилином-эозином при 40-и 100-кратном увеличении и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование, проводили всем выжившим в эксперименте животным, неинформативные гистологические срезы исключали из анализа. После эвтаназии животные были тщательно обследованы на предмет внешних патологических изменений в мочевом пузыре, явные визуальные изменения фотографировали. Для даль-

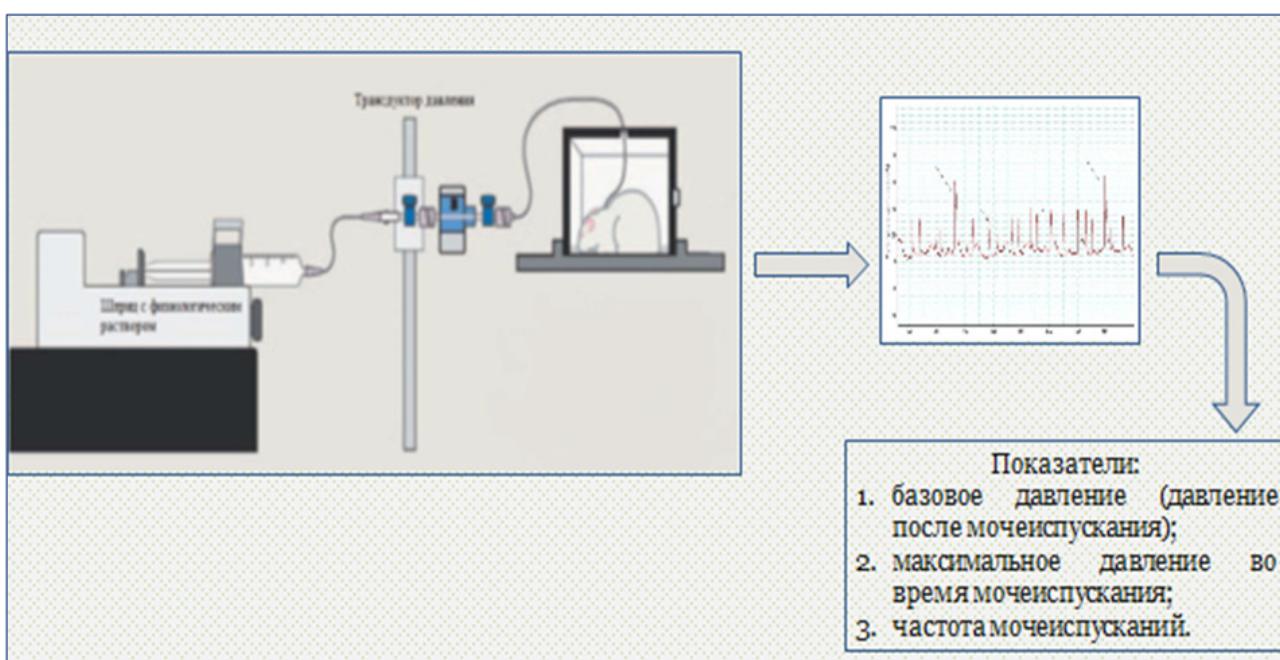


Рисунок 3. Схема проведения цистометрии

нейшего гистологического исследования мочевые пузыри фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина в течение 24 часов.

Образцы стенки мочевого пузыря по общепринятой методике заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной 5 – 7 мкм с последующей окраской гематоксилином и эозином. Анализ гистологических препаратов проводили при помощи светооптического микроскопа Accu-Scope 3000 SERIES (ACCU-SCOPE Inc., Commack, NY, USA) при увеличении $\times 40$ и $\times 100$, а микрофотографирование — при помощи цифровой фотокамеры TOUPCAM UCMOS05100KPA (Hangzhou ToupTek Photonics Co., Ltd., Hangzhou, Zhejiang, PRC) и программного обеспечения ToupView 3.7.7892.

Для ИГХ-исследования образцы мочевого пузыря подвергали стандартной гистологической пробоподготовке. В качестве первичных антител использовали кроличьи поликлональные антитела к циклооксигеназе 2-го типа (ЦОГ-2) (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA) в разведении 1:100 и кроличьи поликлональные антитела к EP4 Receptor в разведении 1:100 (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) по 200 мкл на образец. В качестве системы визуализации для первичных антител использовали систему детекции PrimeVision (ПраймБиоМед, Москва, Россия)

Морфологический анализ проводили при помощи светооптического микроскопа Carl Zeiss Axio Scope A1 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Germany) при увеличении $\times 200$ и $\times 400$. Микрофотографирование осуществляли при помощи цифровой фотокамеры AxioCamICc 1 и программного обеспечения Zen 2021 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Germany).

Полуколичественную оценку экспрессии маркеров выполняли классическим методом по аналоговой шкале (табл. 3).

Затем подсчитывали число клеток каждой интенсивности и рассчитывали индекс (H-score) классическим методом [21], сравнение исследованных групп проводили по

данному индексу.

Статистический анализ. Статистический анализ выполняли с помощью лицензионного программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Данные проверяли на соответствие закону нормального распределения (критерий Shapiro-Wilk). В случае нормального распределения рассчитывали среднее значение (M), стандартное отклонение (SD). В случае несоответствия данных закону нормального распределения рассчитывали медиану (Me) и квартильный размах [Q1; Q3].

Межгрупповые различия анализировали параметрическими или непараметрическими методами, в зависимости от типа распределения:

— для оценки данных с признаками нормального распределения использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и дисперсионный анализ с повторными измерениями;

— зависимые данные предварительно проверяли на сферичность дисперсий с помощью теста сферичности Mauchly's. В случае невыполнения предположения о сферичности дисперсий применяли дисперсионный анализ с поправкой Greenhouse-Geisser. При обнаружении достоверного влияния исследуемого фактора последующие межгрупповые сравнения проводили с использованием критерия Tukey;

— независимые данные проверяли на гомогенность дисперсий с помощью критерия Levene. При обнаружении достоверного влияния исследуемого фактора последующие межгрупповые сравнения проверяли с использованием критерия Tukey;

— для данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, а также полуколичественных данных (баллы), применяли критерий Kruskall-Wallis, с последующим множественным сравнением средних рангов (критерий Dunn).

Различия определяли при уровне значимости $p < 0,05$.

Таблица 3. Идентификация степеней окраски ИГХ-исследования

Аналоговое значение	0	1	2	3
Обозначение	–	+	++	+++
Характеристика окраски	Отрицательная	Слабая	Средняя	Сильная
Цвет указателя на гистограмме	Белый 	Желтый 	Синий 	Черный 

Результаты

Общее состояние животных

На фоне циклофосфамид-индуцированного ИЦ у животных всех групп регистрировали симптомы боли и дистресса (атаксия, взъерошенность шерсти, признаки угнетения, выделения из носа и глаз), поллакиурию, гематурию, кровь в кале, характерные для моделируемой патологии.

На фоне ухудшения общего состояния у моделей, получавших комбинацию Неоваскулген® + Ботокс®, фиксировали статистически значимое снижение массы тела с 3 – 4-го дня эксперимента. В группах монотерапии статистически значимое снижение массы тела животных обнаруживали с 6 – 7-го дня эксперимента.

Цистометрия

Циклофосфамидный ИЦ у животных сопровождался признаками нарушенного мочеиспускания и детрузорной дисфункции. Так, у животных группы 2 (индуцированный ИЦ + вода для инъекций) определены значимые повышения базового и максимального пузырного давления, а также учащение мочеиспусканий относительно данных группы 1 (интактные животные), где $p < 0,05$.

Введение лечебных препаратов оказало влияние на все исследуемые уродинамические показатели. Так, базовое внутрипузырное давление значимо уменьшилось у животных групп 4 – 9 ($p < 0,05$) и стало сравнимо с таковым в группе 1. При этом более эффективной оказалась комбинация Неоваскулген® + Ботокс® в дозировках 20 мкг/кг + 30 ЕД/кг (группа 4) и 80 мкг/кг + 30 ЕД/кг (группа 5), а также препарат Неоваскулген® в дозе 80 мкг/кг (группа 8).

На снижение максимального внутрипузырного давления оказали наибольшее влияние препараты Неоваскулген®, 5 и 20 мкг/кг (группы 6 и 7), Ботокс®, 30 ЕД/кг (группа 9), а также их комбинация при минимальной (группа 3) и средней (группа 4) дозе Неоваскулгена® ($p < 0,05$). В остальных группах динамика показателя была минимальна и не имела статистической значимости.

Оценка частоты мочеиспусканий показала, что наибольшее соответствие этого параметра контрольным значениям достигнуто в группах 9 (Ботокс®, 30 ЕД/кг), 7 (Неоваскулген®, 20 мкг/кг) и 8 (Неоваскулген®, 80 мкг/кг) ($p < 0,05$). В группах 6 (Неоваскулген®, 5 мкг/кг) и 4 (Неоваскулген®, 20 мкг/кг + Ботокс®, 30 ЕД/кг) значимого снижения частоты мочеиспусканий отмечено не было ($p \geq 0,05$).

В совокупности полученных данных наиболее точное и статистически значимое соответствие анализируемых параметров данным контрольной группы получено в группах 9 (Ботокс®, 30 ЕД/кг) и 7 (Неоваскулген®, 20 мкг/кг) (табл. 4, рис. 4 – 6).

Морфологические исследования

Световая микроскопия с окраской гематоксилин-эозином. Гистологическая оценка стенки мочевого пузыря интактных животных (группа 1) не выявила патологических изменений (рис. 7). Напротив, у всех животных групп 2 – 9 были обнаружены гистологические признаки цистита в виде утолщения стенки мочевого пузыря за счёт отёка, кровоизлияний различной степени выраженности, диффузно-очаговой инфильтрации слизистой и мышечной оболочек мочевого

Таблица 4. Показатели цистометрии у животных на 8-й день эксперимента

№ группы	Объект	Доза препарата	Базовое внутри-пузырное давление, мм рт. ст.	Максимальное внутрипузырное давление при мицции, мм рт. ст.	Частота мочеиспусканий за исследование
			$M \pm SD$	$M \pm SD$	
1	Интактные животные	–	26 ± 6,0	58 ± 5,2	4 [4; 5]
2	Индуцированный ИЦ + вода для инъекций	–	34 ± 10,6	98 ± 4,0	7 [7; 8]
3	Неоваскулген® + Ботокс®	5 мкг/кг + 30 ЕД/кг	31 ± 8,2	77 ± 7,2	7 [6; 7]
4		20 мкг/кг + 30 ЕД/кг	24 ± 6,9	64 ± 13,9	6 [6; 6]
5		80 мкг/кг + 30 ЕД/кг	25 ± 1,7	81 ± 5,6	7 [6; 8]
6	Неоваскулген®	5 мкг/кг	25 ± 2,4	52 ± 5,5	6 [6; 6]
7		20 мкг/кг	20 ± 2,8	49 ± 4,7	4 [3; 4]
8		80 мкг/кг	16 ± 2,7	83 ± 9,3	4 [4; 4]
9	Ботокс®	30 ЕД/кг	18 ± 4,9	58 ± 21,3	4 [3; 4]

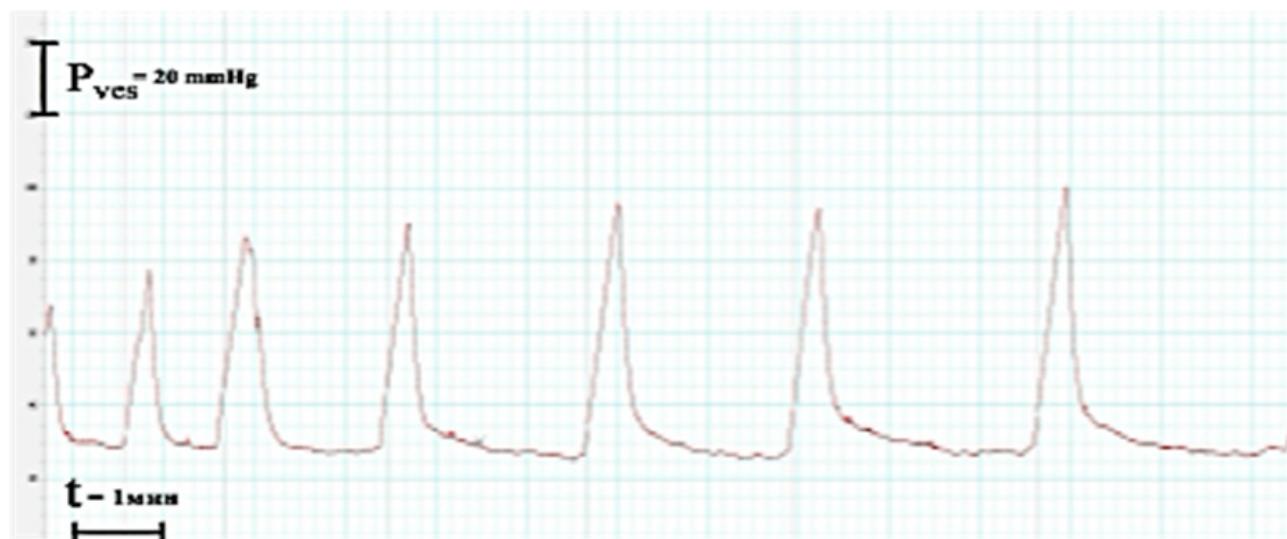


Рисунок 4. Цистометрограмма при ИЦ

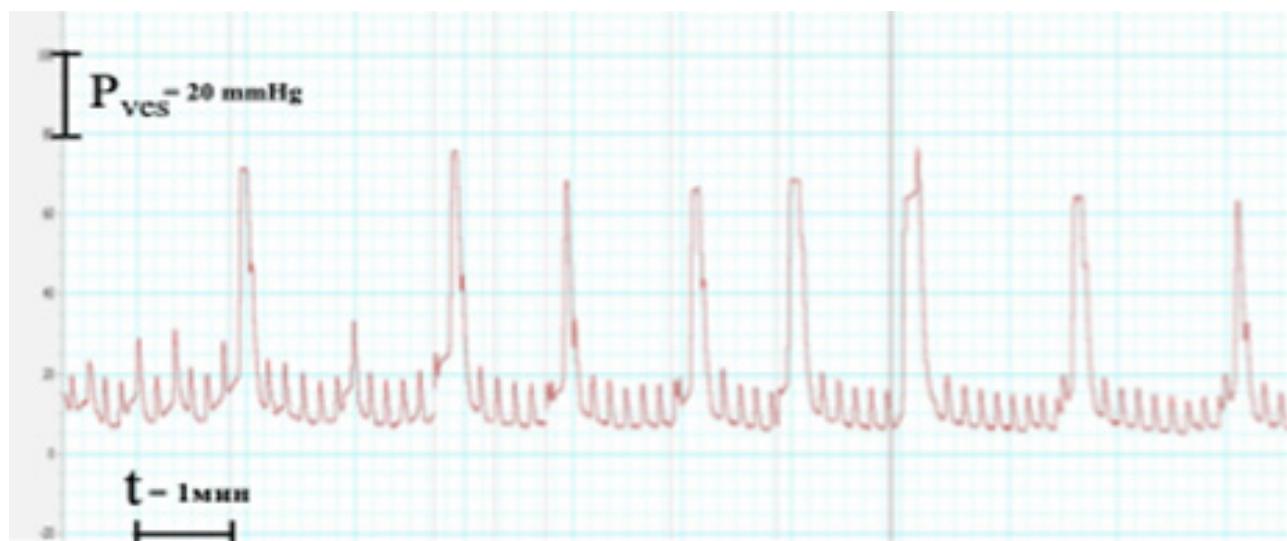


Рисунок 5. Изменения внутривезикулярного давления на фоне введения Неоваскулгена®

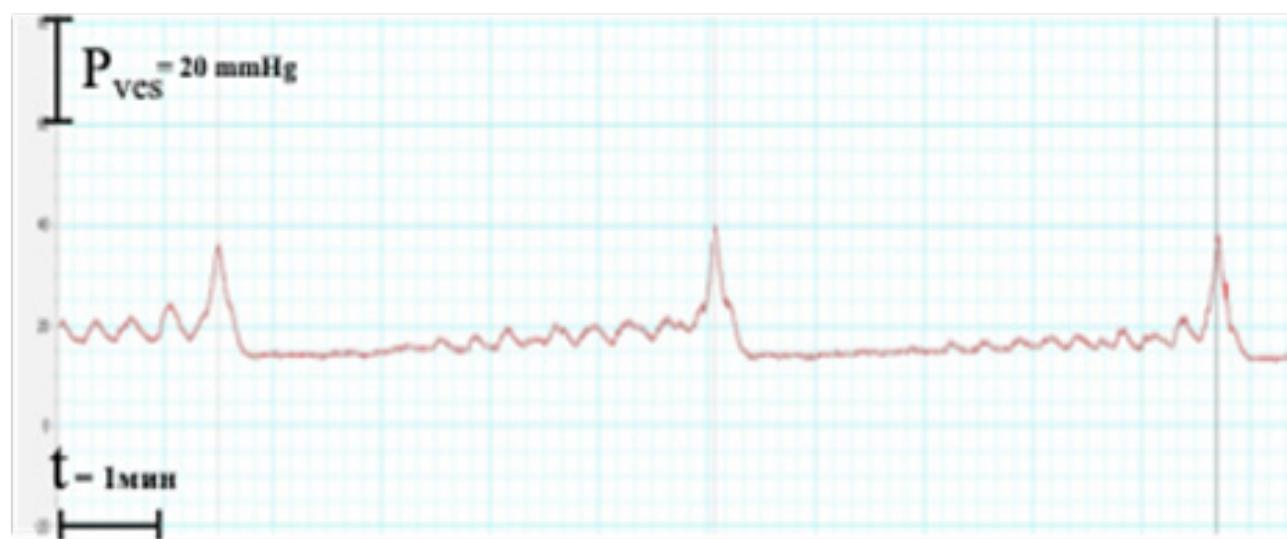


Рисунок 6. Изменения внутривезикулярного давления на фоне введения Ботокса®

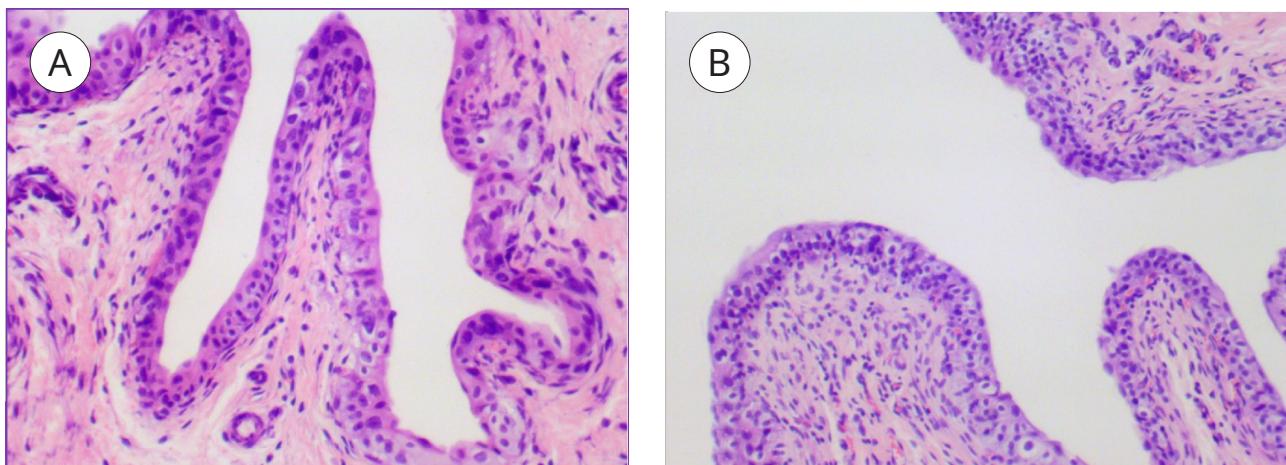


Рисунок 7. Световая микроскопия, гематоксилин-эозин, ув. $\times 100$. Группа 1. Стенка мочевого пузыря: патологические изменения отсутствуют (А, В)

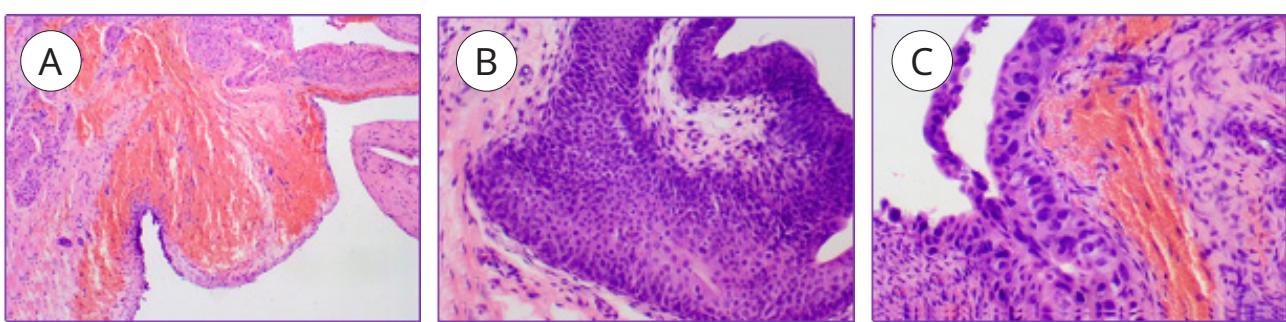


Рисунок 8. Световая микроскопия, гематоксилин-эозин. Группы 2 – 9. Стенка мочевого пузыря: А — утолщение стенки за счёт отёка, кровоизлияний. Очаговый некроз эпителия (ув. $\times 40$); В — гиперплазия эпителия (ув. $\times 100$); С — отёк подслизистой основы, кровоизлияния стенки, диффузная смешанно-клеточная инфильтрация макрофагами, лимфоцитами, плазмоцитами (ув. $\times 100$)

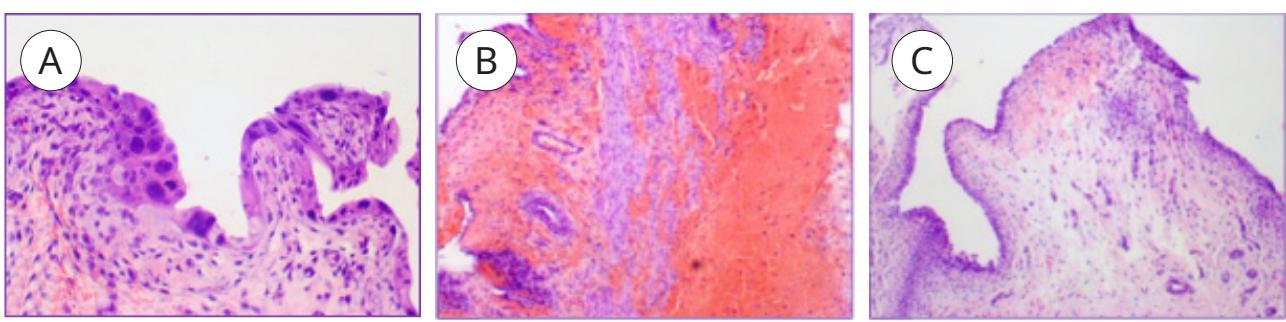


Рисунок 9. Световая микроскопия, гематоксилин-эозин. Стенка мочевого пузыря. А — Группа 7 (ув. $\times 100$). В — Группа 9 (ув. $\times 40$). Утолщение стенки за счёт отёка и кровоизлияний; слабо, участками умерено выраженная диффузная смешанно-клеточная инфильтрация стенки макрофагами, лимфоцитами, плазмоцитами; небольшие зоны некроза эпителия. С — Группа 4 (ув. $\times 40$). Определяемые патологические зоны имеют меньшую выраженность в сравнении с препаратами животных 7 и 9 групп — утолщение стенки за счёт отёка и кровоизлияний, слабо выражена смешанно-клеточная инфильтрация макрофагами, лимфоцитами и плазмоцитами в подслизистой основе

пузыря различной степени выраженности, представленная в основном макрофагами, лимфоцитами и плазмоцитами. В единичных случаях отмечены небольшие группы нейтрофилов. Воспалительные изменения были представлены множественны-

ми очагами некроза слизистой оболочки, подслизистой основы, в редких случаях деструкция распространялась на мышечную оболочку. В некоторых очагах некроза слизистой оболочки имелись участки кальцификации.

Таблица 5. Показатели экспрессии ЦОГ-2 и PGE2 (EP4) при ИГХ-оценке стенки мочевого пузыря

№ группы	Объект	Доза препарата	ЦОГ-2	PGE2 (EP4)
			Индекс экспрессии, M ± SD	Индекс экспрессии, M ± SD
1	Интактные животные	–	91 ± 14,0	15 ± 5,9
2	Индуцированный ИЦ + вода для инъекций	–	120 ± 17,1	34 ± 17,6
3		5 мкг/кг + 30 Ед/кг	114 ± 16,6	29 ± 15,9
4	Неоваскулген® + Ботокс®	20 мкг/кг + 30 Ед/кг	115 ± 11,4	23 ± 7,8
5		80 мкг/кг + 30 Ед/кг	124 ± 16,5	31 ± 17,1
6		5 мкг/кг	105 ± 14,8	23 ± 15,1
7	Неоваскулген®	20 мкг/кг	99 ± 17,8	26 ± 18,2
8		80 мкг/кг	124 ± 12,4	26 ± 17,3
9	Ботокс®	30 Ед/кг	98 ± 17,0	20 ± 9,4

Следует отметить, что в группах 7 и 9 гистологические изменения в виде отёка, очагов кровоизлияний, клеточной инфильтрации и некрозов были выражены значительно слабее в сравнении с группой 2. Однако ещё меньшая клеточная инфильтрация была отмечена в группе 4 (рис. 8 – 9).

Иммуногистохимическая оценка. ИГХ-исследование препаратов интактных животных (группа 1) определило отсутствие иммунопозитивной окраски. Индексы экспрессии ЦОГ-2 и PGE2 (EP4), полученные в данной группе, были приняты за базовые значения и имели значимые отличия от подобных во всех исследуемых группах при последующем сравнении.

Введение Эндоксана® (группа 2) ожидаемо привело к формированию воспалительного процесса, что обусловило значимое повышение индексов экспрессии ЦОГ-2 ($p < 0,05$) и PGE2 (EP4) ($p > 0,5$).

В группах 3 и 4 определяется снижение экспрессии индексов ЦОГ-2 и PGE2 (EP4)

в сравнении с данными группы 2 ($p > 0,05$), однако повышение дозы Неоваскулгена® до максимальной при сочетании с Ботоксом® (группа 5) нивелирует эти различия. В то же время введение только Неоваскулгена® в минимальной и средней концентрациях (группы 6 и 7) сопровождается более значимым влиянием на снижение экспрессии ЦОГ-2 и PGE2 (EP4) в сравнении с комплексом Неоваскулген® + Ботокс® ($p < 0,05$). Но максимальная концентрация Неоваскулгена® (группа 8) также не оказывает значимого эффекта на динамику индексов экспрессии ЦОГ-2 и PGE2 (EP4) ($p > 0,05$).

Необходимо отметить, что наибольшее влияние в подавлении экспрессии ЦОГ-2 и PGE2 (EP4) оказывают как Неоваскулген® в дозе 20 мкг/кг (группа 7), так и Ботокс® 30 Ед/кг (группа 9), указанные различия имеют статистическую значимость в сравнении с данными группы 2 ($p < 0,05$) и не различаются между группами 7 и 9 ($p > 0,05$). (табл. 5, рис. 10 – 13).

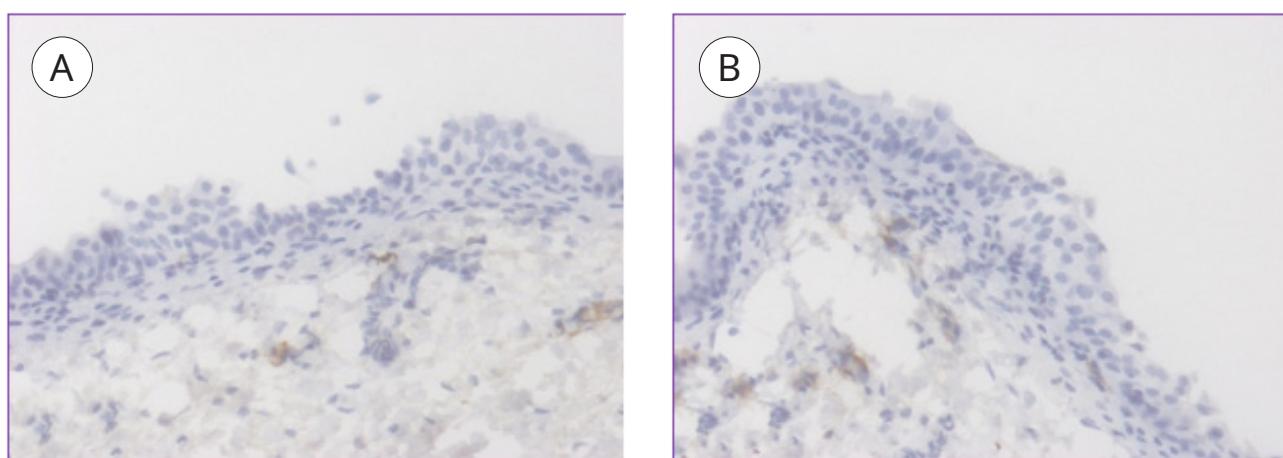


Рисунок 10. Группа 1. Стенка мочевого пузыря, ув. ×200. А — ИГХ-окраска на ЦОГ-2. В — ИГХ-окраска на EP4 Receptor. Отсутствие иммунопозитивной окраски

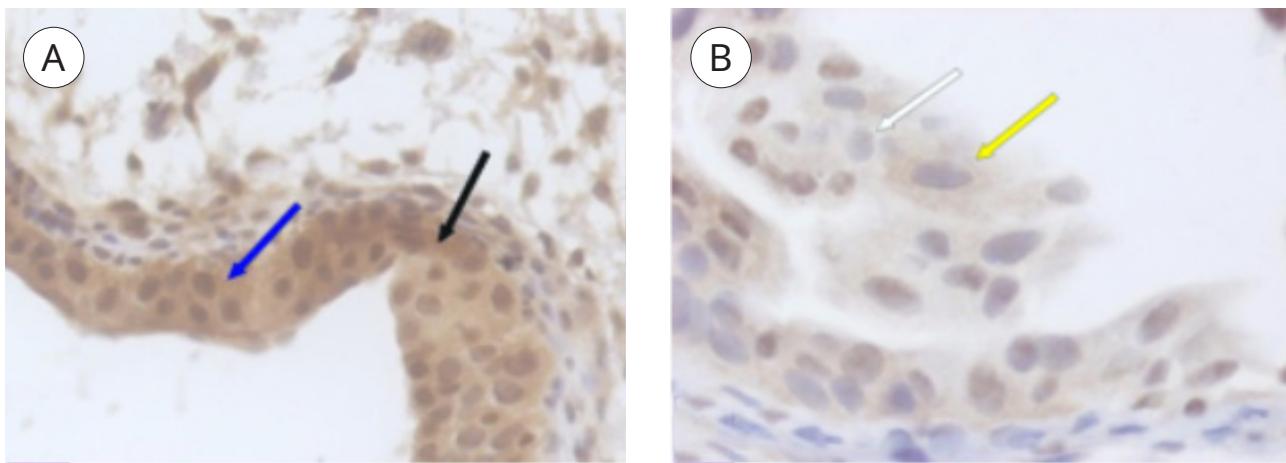


Рисунок 11. Группа 2. Стенка мочевого пузыря. А — ИГХ-окраска на ЦОГ-2 (ув. $\times 200$): умеренно и сильно положительная окраска. В — ИГХ-окраска на EP4 Receptor (ув. $\times 400$): отрицательная и слабо положительная окраска

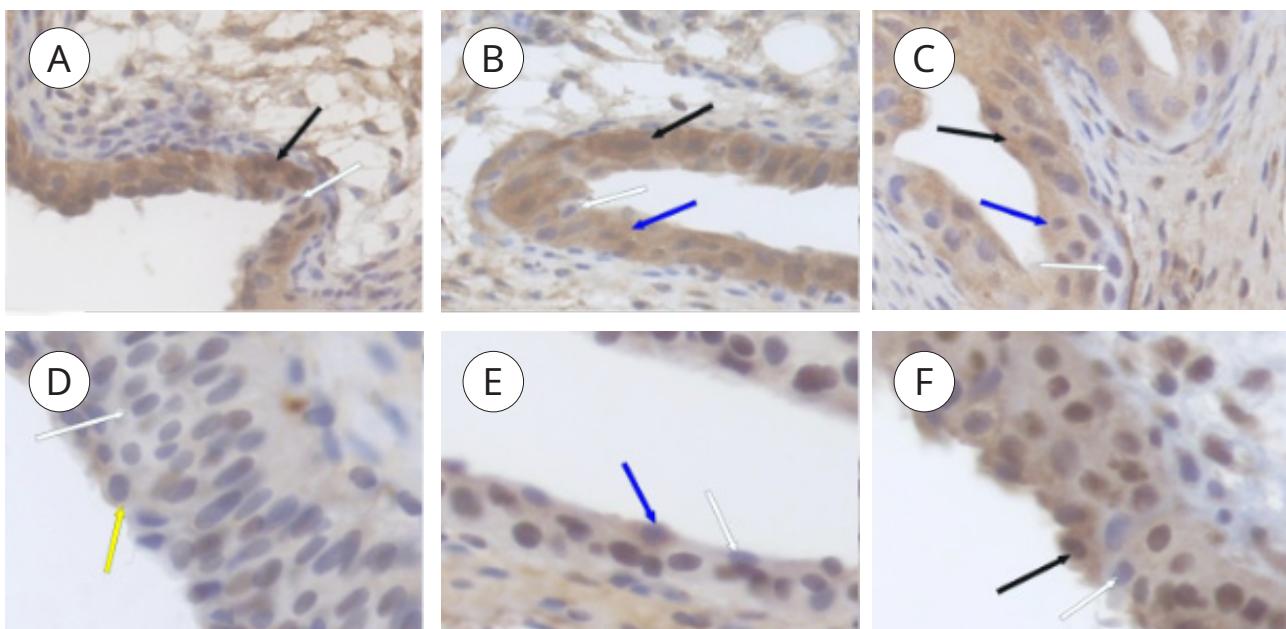


Рисунок 12. Стенка мочевого пузыря. А – С — ИГХ-окраска на ЦОГ-2 (ув. $\times 200$), где А, В, С — препараты групп 3, 5 и 8 соответственно: преимущественно умеренно и сильно положительная окраска. Д – Ф — ИГХ-окраска на EP4 Receptor (ув. $\times 400$), где Д, Е, Ф — препараты групп 4, 5 и 8 соответственно: преимущественно умеренная и сильная окраска

Обсуждение

В разработке моделей ИЦ на животных был достигнут значительный прогресс [22]. Однако маловероятно, что модели на животных смогут идеально воспроизвести патофизиологические процессы в мочевом пузыре, подобные ИЦ людей. Тем не менее использование наиболее точных моделей имитации ИЦ крайне важно для разработки и изучения новых методов лечения и прежде всего новых лекарственных препаратов [6, 12]. Так, в последние годы были проведены исследования по терапии ИЦ

с использованием моноклональных антител [23] селективного ингибитора хемокиновых рецепторов CXCR 1/2 [13], стромальной васкулярной фракции жировых тканей человека [24], аутоплазмы, обогащённой тромбоцитами [12, 25, 26], гиалуроновой кислоты и хондроитин сульфата [27], и другие. Большинство из этих исследований было проведено на модели циклофосфамидного цистита, которая считается наиболее адекватной ИЦ человека.

В настоящем исследовании были показаны уменьшение толщины уротелия, его

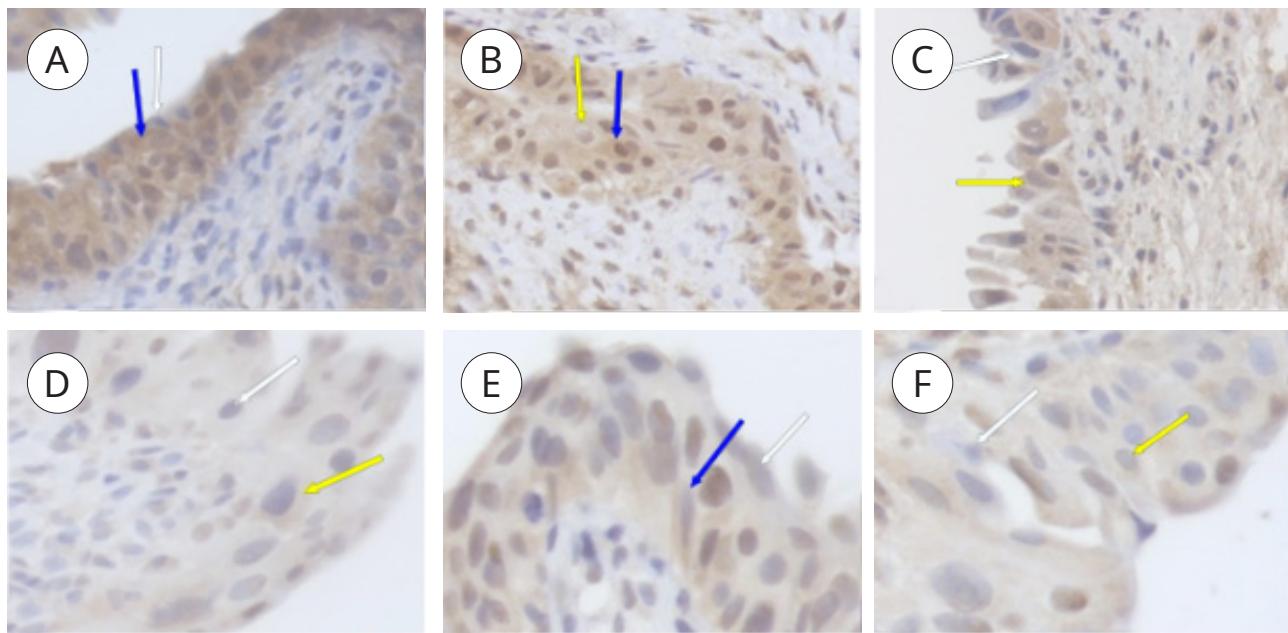


Рисунок 13. Стенка мочевого пузыря. А – С — ИГХ-окраска на ЦОГ-2 (ув. $\times 200$), где А, В, С — препараты групп 6, 7 и 9 соответственно: отрицательная, слабая и умеренно положительная окраска. D – F — ИГХ-окраска на EP4 Receptor (ув. $\times 200$), где D, E, F — препараты групп 6, 7 и 9 соответственно: преимущественно отрицательная и умеренная окраска

эрозии, резкий отёк и клеточная воспалительная инфильтрация слизистой и детрузора в ответ на введение в организм крыс циклофосфамида. Клиническая реакция животных в ответ на это сопровождалась развитием признаков боли, дистресса, поллакиурии, в ряде случаев гематурии.

Внутридетрузорное введение Ботокса® и Неоваскулгена® в виде монотерапии понижало частоту мочеиспускания и внутрипузырное давление в сравнении с течением циклофосфамидного ИЦ без лечения. Имело место и снижение остроты воспалительной реакции стенки мочевого пузыря при внутридетрузорном введении Неоваскулгена® в сравнении с аналогичным исследованием Ботокса®.

Позитивный эффект отмечен при эскалации дозы Неоваскулгена® при совместном воздействии Неоваскулгена® и Ботокса®, однако синергического эффекта не отмечено.

Наше исследование имеет ограничения, связанные с четвероногостью крысы, иной тазовой анатомией и функцией тазовых

органов, проведением цистометрических исследований под анестезией. Кроме того, экспериментальный циклофосфамидный цистит воспроизводится химическим агентом, а ИЦ человека — это хроническое заболевание неясной причины. Поэтому результаты нашего исследования следует с осторожностью экстраполировать на человека.

Заключение

Проведённое исследование подтвердило, что циклофосфамид вызывает цистит у крыс, симптомы и признаки которого подобны ИЦ человека. Внутридетрузорное введение препарата Неоваскулген® самкам крыс, обработанных циклофосфамидом, вызывает редукцию симптомов, улучшает функцию мочевого пузыря и снижает активность воспалительной реакции в стенке органа. Эффекты Неоваскулгена® подобны действию Ботокса® в модели циклофосфамид-индуцированного интерстициального цистита.

Список литературы | References

1. Hanno PM, Erickson D, Moldwin R, Faraday MM; American Urological Association. Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome: AUA guideline amendment. *J Urol.* 2015;193(5):1545-1553. DOI: 10.1016/j.juro.2015.01.086
2. Parsons CL. The role of the urinary epithelium in the pathogenesis of interstitial cystitis/prostatitis/urethritis. *Urology.* 2007;69(4 Suppl):9-16.
3. de Groat WC, Griffiths D, Yoshimura N. Neural control of the lower urinary tract. *Compr Physiol.* 2015;5(1):327-396. DOI: 10.1002/cphy.c130056
4. Karamali M, Shafabakhsh R, Ghanbari Z, Eftekhar T, Asemi Z. Molecular pathogenesis of interstitial cystitis/bladder pain syndrome based on

- gene expression. *J Cell Physiol.* 2019;234(8):12301-12308.
DOI: 10.1002/jcp.28009
5. Akiyama Y. Biomarkers in Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome with and without Hunner Lesion: A Review and Future Perspectives. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(12):2238.
DOI: 10.3390/diagnostics1112238
6. Shah AM, Vodovotz Y, Yoshimura N, Chermansky CJ, Fitzgerald J, Tyagi P. Temporally complex inflammatory networks in an animal model reveal signatures for interstitial cystitis and bladder pain syndrome phenotype. *Neurourol Urodyn.* 2023;42(8):1839-1848.
DOI: 10.1002/nau.25267
7. Akiyama Y, Luo Y, Hanno PM, Maeda D, Homma Y. Interstitial cystitis/bladder pain syndrome: The evolving landscape, animal models and future perspectives. *Int J Urol.* 2020;27(6):491-503.
DOI: 10.1111/iju.14229
8. Chang YC, Yu CY, Dong C, Chen SL, Sung WW. Divergent histopathological and molecular patterns in chemically induced interstitial cystitis/bladder pain syndrome rat models. *Sci Rep.* 2024;14(1):16134.
DOI: 10.1038/s41598-024-67162-y
9. Fowler CJ, Griffiths D, de Groat WC. The neural control of micturition. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9(6):453-466.
DOI: 10.1038/nrn2401
10. Garzon S, Laganà AS, Casarin J, Raffaelli R, Cromi A, Sturla D, Franchi M, Ghezzi F. An update on treatment options for interstitial cystitis. *Prz Menopauzalny.* 2020;19(1):35-43.
DOI: 10.5114/prm.2020.95334
11. Хамедов Р.Г., Горготский И.А., Шкарупа А.Г., Шкарупа Д.Д., Гаджиев Н.К. Использование обогащенной тромбоцитами плазмы при интерстициальном цистите и эректильной дисфункции. *Вестник урологии.* 2022;10(1):121-127.
Khamedov R.G., Gorgotsky I.A., Shkarupa A.G., Shkarupa D.D., Gadzhiev N.K. Platelet-rich plasma: application for interstitial cystitis and erectile dysfunction. *Urology Herald.* 2022;10(1):121-127. (In Russian).
DOI: 10.21886/2308-6424-2022-10-1-121-127
12. Chen YH, Man KM, Chen WC, Liu PL, Tsai KS, Tsai MY, Wu YT, Chen HY. Platelet-Rich Plasma Ameliorates Cyclophosphamide-Induced Acute Interstitial Cystitis/Painful Bladder Syndrome in a Rat Model. *Diagnostics (Basel).* 2020;10(6):381.
DOI: 10.3390/diagnostics10060381
13. Brandolini L, Aramini A, Bianchini G, Ruocco A, Bertini R, Novelli R, Angelico P, Valsecchi AE, Russo R, Castelli V, Cimini A, Allegretti M. Inflammation-Independent Antinociceptive Effects of DF2755A, a CXCR1/2 Selective Inhibitor: A New Potential Therapeutic Treatment for Peripheral Neuropathy Associated to Non-Ulcerative Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome. *Front Pharmacol.* 2022;13:854238.
DOI: 10.3389/fphar.2022.854238
14. Sakata T, Smith RA, Garland EM, Cohen SM. Rat urinary bladder epithelial lesions induced by acrolein. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 1989;9(2):159-169.
PMID: 2732910.
15. Bjorling DE, Elkahwaji JE, Bushman W, Janda LM, Boldon K, Hopkins WJ, Wang ZY. Acute acrolein-induced cystitis in mice. *BJU Int.* 2007;99(6):1523-1529.
DOI: 10.1111/j.1464-410X.2007.06773.x
16. Государственный реестр лекарственных средств. Регистрационное удостоверение препарата Неоваскулген®. (Дата обращения 03.01.2025)
- State Register of Medicines. Registration certificate of the drug Neovasculgen® (Accessed 03.01.2025). (In Russian).
URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=fbd48945-f006-43d5-b67d-99825a786c08
17. Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Нерсесян Е.Г., Власенко О.Н., Исаев А.А. Возможности генной терапии при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* 2014;(4):40-45.
Cherviakov YuV, Staroverov IN, Nersesian EG, Vlasenko ON, Isaev AA. The opportunities for genic therapy of chronic obliterating diseases of lower limbs arteries. *Pirogov Russian Journal of Surgery.* 2014;(4):40-45. (In Russian).
eLIBRARY ID: 21568109; EDN: SDZIWN
18. Lucioni A, Bales GT, Lotan TL, McGehee DS, Cook SP, Rapp DE. Botulinum toxin type A inhibits sensory neuropeptide release in rat bladder models of acute injury and chronic inflammation. *BJU Int.* 2008;101(3):366-370.
DOI: 10.1111/j.1464-410X.2007.07312.x
19. Birder L, Andersson KE. Animal Modelling of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome. *Int Neurourol J.* 2018;22(Suppl 1):S3-9.
DOI: 10.5213/inj.1835062.531
20. Gad SC, Spainhour CB, Shoemaker C, Pallman DR, Stricker-Krongrad A, Downing PA, Seals RE, Eagle LA, Polhamus K, Daly J. Tolerable Levels of Nonclinical Vehicles and Formulations Used in Studies by Multiple Routes in Multiple Species With Notes on Methods to Improve Utility. *Int J Toxicol.* 2016;35(2):95-178.
DOI: 10.1177/1091581815622442
21. Ruengwanichayakun P. Histological scoring assessment (H-score). *Asian Arch Pathol.* 2021;3(1):13-14.
22. Tay C, Grundy L. Animal models of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Front Physiol.* 2023;14:1232017.
DOI: 10.3389/fphys.2023.1232017
23. Mykoniatis I, Tsikaras S, Samarinis M, Anastasiadis A, Symeonidis EN, Sountoulides P. Monoclonal Antibody Therapy for the Treatment of Interstitial Cystitis. *Biologics.* 2022;16:47-55.
DOI: 10.2147/BTT.S290286
24. Ha JY, Lee EH, Chun SY, Lee JN, Ha YS, Chung JW, Yoon BH, Jeon M, Kim HT, Kwon TG, Yoo ES, Kim BS. The Efficacy and Safety of a Human Perirenal Adipose Tissue-Derived Stromal Vascular Fraction in an Interstitial Cystitis Rat Model. *Tissue Eng Regen Med.* 2023;20(2):225-237.
DOI: 10.1007/s13770-022-00505-w
25. Jhang JF, Yu WR, Kuo HC. Comparison of the Clinical Efficacy and Adverse Events between Intravesical Injections of Platelet-Rich Plasma and Botulinum Toxin A for the Treatment of Interstitial Cystitis Refractory to Conventional Treatment. *Toxins (Basel).* 2023;15(2):121.
DOI: 10.3390/toxins15020121
26. Lee YK, Jiang YH, Jhang JF, Ho HC, Kuo HC. Changes in the Ultrastructure of the Bladder Urothelium in Patients with Interstitial Cystitis after Intravesical Injections of Platelet-Rich Plasma. *Biomedicines.* 2022;10(5):1182.
DOI: 10.3390/biomedicines10051182
27. Danacioglu YO, Erol B, Ozkanli S, Yildirim A, Atis RG, Silay MS, Caskurlu T. Comparison of Intravesical Hyaluronic Acid, Chondroitin Sulfate, and Combination of Hyaluronic Acid-Chondroitin Sulfate Therapies in Animal Model of Interstitial Cystitis. *Int Neurourol J.* 2021;25(1):42-50.
DOI: 10.5213/inj.1938176.088

Сведения об авторах | Information about the authors

Михаил Иосифович Коган — д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ | **Mikhail I. Kogan** — Dr.Sc.(Med), Full Prof., Hons. Sci. of the Russian Federation
https://orcid.org/0000-0002-1710-0169; dept_kogan@mail.ru

Игорь Иванович Белоусов — д-р мед. наук, доцент | **Igor I. Belousov** — Dr.Sc.(Med), Assoc.Prof.(Docent);
https://orcid.org/0000-0003-0674-9429; belrost_dept@mail.ru

Алёна Алексеевна Матичина | **Alena A. Matichina**
<https://orcid.org/0000-0002-2996-0748; matichina.aa@doctlinika.ru>

Александр Алексеевич Матичин | **Aleksandr A. Matichin**
<https://orcid.org/0000-0001-7478-4942; matichin.aa@doctlinika.ru>

Екатерина Валерьевна Беляева — канд. ветерин. наук | **Ekaterina V. Belyaeva** — Cand. Sci.(Vet),
<https://orcid.org/0000-0003-1185-1399; belyaeva.ev@doctlinika.ru>