

Коррекция рубцовых изменений инфаркта миокарда в подострой стадии при применении диспергированного аллогенного биоматериала

Лебедева А. И.^{1,2}, Афанасьев С. А.³, Кондратьева Д. С.³, Гареев Е. М.¹, Муслимов С. А.^{1,2}, Попов С. В.³

Цель. Выявить особенности ремоделирования миокарда после имплантации диспергированного аллогенного биоматериала (БМА) в подострой стадии экспериментального инфаркта и определить роль продуктов распада этого биоматериала в формировании регенерата.

Материал и методы. Крысам-самцам в контрольной группе (n=30) через 5 сут. после коронароокклюзии в бассейн стенозированной артерии интрамиокардиально вводили физиологический раствор, в опытной группе (n=30) суспензию БМА в количестве 3 мг. Ткани миокарда исследовали через 7, 14, 50 сут. от начала эксперимента с использованием гистологических (окраска гематоксилином и эозином, по Маллори, альциановым синим), иммуногистохимических (с-kit, GATA-4), статистических методов.

Результаты. В опытной группе площадь рубца была снижена в 1,66 раз. Продуктами биодegradации БМА явились — коллаген, сульфатированные (дерматан- и кератансульфат), а также несulfатированные (гиалуроновая кислота) гликозаминогликаны. Использованный БМА служил промотором ранней пролиферативной фазы воспаления и оказывал противовоспалительный эффект. Частицы БМА являлись хемоаттрактантом стволовых и прогениторных клеток миокарда в подострой стадии инфаркта миокарда и способствовали их дифференциации и интеграции в ткань.

Заключение. Продукты биодegradации аллогенного биоматериала, введенного интрамиокардиально в подострой стадии инфаркта, способствуют формированию мышечно-соединительнотканного регенерата и эффективно предупреждают его рубцовое перерождение.

Российский кардиологический журнал. 2019;24(7):68–74

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2019-7-68-74>

Ключевые слова: аллогенный биоматериал, регенерация миокард, гликозаминогликаны.

Конфликт интересов: не заявлен.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания: регистрационный номер НИОКР № 056-00110-18-00.

¹ФГБУ Всероссийский центр глазной и пластической хирургии Минздрава России, Уфа; ²ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, Уфа; ³ФГБНУ НИИ кардиологии, Томского НИМЦ (Национальный исследовательский медицинский центр), Томск, Россия.

Лебедева А. И.* — д.б.н., с.н.с. отдела морфологии, доц. кафедры анатомии человека, ORCID: 0000-0002-9170-2600, Афанасьев С. А. — д.м.н., зав. лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, ORCID: 0000-0001-6066-3998, Кондратьева Д. С. — к.м.н., н.с. лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, ORCID: 0000-0002-4004-2497, Гареев Е. М. — к.б.н., доцент, с.н.с. лаборатории нейрофизиологии, ORCID: 0000-0002-6561-0892, Муслимов С. А. — д.м.н., в.н.с., зав. отделом морфологии, доц. кафедры анатомии человека, ORCID: 0000-0002-9076-0251, Попов С. В. — академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, директор, ORCID: 0000-0002-9050-4493.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): Jeol02@mail.ru

БМА — биоматериал Аллоплант, ГАГ — гликозаминогликаны, ГК — гиалуроновая кислота, ИМ — инфаркт миокарда, ИПР — индекс площади рубца.

Рукопись получена 27.05.2019

Рецензия получена 06.06.2019

Принята к публикации 19.06.2019



Correction of cicatricial changes in subacute stage of myocardial infarction with using of dispersed allogenic biomaterial

Lebedeva A. I.^{1,2}, Afanasiev S. A.³, Kondratyeva D. S.³, Gareev E. M.¹, Muslimov S. A.^{1,2}, Popov S. V.³

Aim. To identify the features of myocardial remodeling after implantation of a dispersed allogenic biomaterial (DAB) in the subacute stage of experimental infarction and determine the role of decay products in the formation of regenerate.

Material and methods. Male rats in the control group (n=30) 5 days after coronary occlusion received physiological saline (intramyocardially), in the experimental group (n=30) — 3 mg of DAB. Myocardial tissues were examined after 7, 14, 50 days from the beginning of the experiment using histological, immunohistochemical and statistical methods.

Results. In the experimental group, the cicatrix area was reduced by 1,66 times. The products of DAB biodegradation were collagen, sulfated (dermatan- and keratan sulfate), as well as non-sulfated (hyaluronic acid) glycosaminoglycans. Used DAB served as a promoter of the early proliferative phase of inflammation and had an anti-inflammatory effect. DAB particles were a chemoattractant of stem and progenitor myocardial cells in the subacute stage of myocardial infarction. It contributed to their differentiation and integration into the tissue.

Conclusion. The products of biodegradation of allogenic biomaterial, administered intramyocardially in the subacute stage of infarction, contribute to the formation of muscular-connective tissue regenerate and effectively prevent its cicatricial devolution.

Russian Journal of Cardiology. 2019;24(7):68–74

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2019-7-68-74>

Key words: allogenic biomaterial, myocardial regeneration, glycosaminoglycans.

Conflicts of Interest: nothing to declare.

Funding. The study was conducted within the framework of the state assignment № 056-00110-18-00.

¹All-Russian Eye and Plastic Surgery Center, Ufa; ²Bashkir State Medical University, Ufa; ³Research Institute of Cardiology, National Research Medical Center, Tomsk, Russia.

Lebedeva A. I. ORCID: 0000-0002-9170-2600, Afanasiev S. A. ORCID: 0000-0001-6066-3998, Kondratyeva D. S. ORCID: 0000-0002-4004-2497, Gareev E. M. ORCID: 0000-0002-6561-0892, Muslimov S. A. ORCID: 0000-0002-9076-0251, Popov S. V. ORCID: 0000-0002-9050-4493.

Received: 27.05.2019 Revision Received: 06.06.2019 Accepted: 19.06.2019

Известно, что существующие способы лечения инфаркта миокарда (ИМ) не позволяют избежать некроза части сердечной мышцы, которые замещаются волокнистой соединительной тканью. Итогом является постинфарктное ремоделирование сердца, в результате которого формируется рубец или аневризма. Это приводит к нарушению его функции и внутрисердечной гемодинамики, что объясняет высокую актуальность поиска новых подходов к лечению ИМ. В наших ранее опубликованных работах показано, что интрамиокардиальное введение диспергированного аллогенного биоматериала (БМА) осуществлённое сразу после лигирования коронарной артерии приводило к значительному снижению площади рубца [1]. Однако в клинической практике подобная ситуация практически невозможна.

Цель настоящего исследования — выявить особенности ремоделирования миокарда после интрамиокардиальной имплантации диспергированного аллогенного биоматериала в подострой стадии экспериментального инфаркта и определить роль продуктов распада биоматериала в формировании регенерата.

Материал и методы

Экспериментальные исследования с применением биоматериала Аллоплант были проведены на 60 крысах-самцах линии Вистар 0,20-0,25 кг. Все животные были разделены на две группы — контрольную (n=30) и опытную (n=30).

Моделирование ИМ осуществляли животным, находящимся под общим наркозом (®Золетил в/м, в дозе 0,1 мг/кг), путем наложения шва “викрил” на *r. interventricularis paraconalis a. coronarii sin.* левого желудочка при левосторонней торакотомии. В опытной группе животных через 5 сут. после стенозирования артерии в её бассейн вводили суспензию БМА с суммарным содержанием 3 мг. Доза БМА была взята произвольно. В качестве БМА использовали диспергированную форму биоматериала Аллоплант с размером частиц 50-80 мкм, разработанную в ФГБУ “Все-российский центр глазной и пластической хирургии” МЗ РФ г. Уфы. Биоматериал изготавливается согласно ТУ 42-2-537-87, сертифицирован и разрешен к применению в клинической практике приказом МЗ СССР № 87 901-87 от 22.07.1987г. Для настоящего исследования БМА был изготовлен из сухожилий крыс. Перед применением БМА разводили физиологическим раствором. Животным в контрольной группе вводили 0,9% физиологический раствор в том же объеме. На следующем этапе исследования животных содержали в условиях вивария со свободным доступом к воде и корму с последующим выводом из эксперимента через 7, 14, 50 сут. путем инсуффляции летальной дозы паров эфира. Исследования выполнялись согласно правилам лабораторной прак-

тики в Российской Федерации, в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Strasbourg, 1986), в соответствии с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [2].

Сердца животных, выведенных из эксперимента, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обезжовивали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори, альциановым синим при pH 1,0 и 2,5 с докраской 1% раствором нейтрального красного. Для выявления несulfатированных гликозаминогликанов — гиалуроновой кислоты, предварительно проводили метилирование срезов. Для иммуногистохимических исследований парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивали с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond™ (Германия). В качестве первых антител применяли: c-kit, GATA-4 в разведении 1:300 (Santa Cruz Biotechnology, США). Для демаскировки использовали непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия). Оценку специфичности реакции проводили при окрашивании срезов без первых антител. Подсчет позитивно окрашенных клеток производили в 20 полях зрения каждого образца (n=6) при увеличении ×400. Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием светового микроскопа Leica DMD 108 (Германия) со специализированным программным обеспечением управления настройками и захвата изображения.

Для электронно-микроскопического исследования из сердечной ткани вырезали кусочки размером 1-2 мм³ и фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида, приготовленного на какодилатном буфере (pH 7,2-7,4) с дофиксацией в 1%-ном растворе OsO₄ на том же буфере. Материал обезжовивали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон-812 по общепринятой методике. Предварительно готовили полутонкие срезы на ультратоме EM UC 7 (Leica, Германия) и окрашивали их раствором толуидинового синего на 2,5%-ном растворе безводной соды. На данных срезах выбирали участки для электронно-микроскопического исследования. Ультратонкие срезы контрастировали 2%-ным водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу и изучали в трансмиссионном микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония).

Для определения размера постинфарктного рубца миокарда каждое сердце нарезали поперек на 5 секторов, из которых изготавливали гистологические препараты и подвергали морфологической обра-

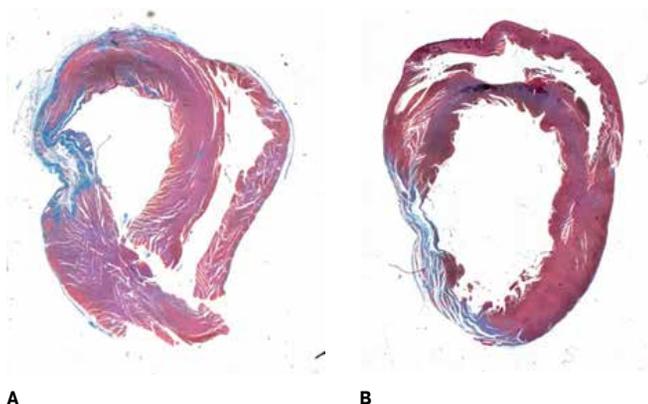


Рис. 1 (А, В). Постинфарктный рубец миокарда на поперечном срезе сердца крысы. 50 суток после лигирования коронарной артерии. **А** — введение БМА в опытной группе. **В** — введение физ. раствора в контрольной группе. Окраска по Маллори.

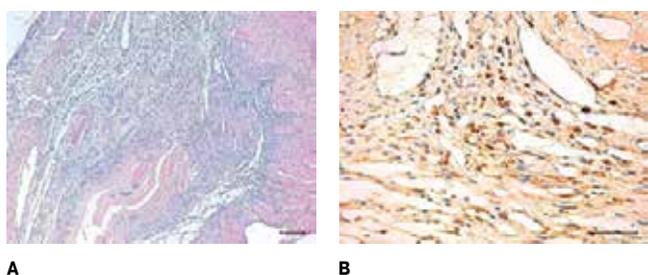


Рис. 2 (А, В). Реактивная зона миокарда в опытной группе через 7 суток после имплантации БМА. **А** — грануляционная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. **В** — Инфильтрация миокарда с-*kit*⁺ клетками. Непрямой иммунопероксидазный метод выявления с-*kit* с докраской гематоксилином.

ботке. Всего было использовано 300 срезов. Индекс площади рубца сердец крыс измеряли на препаратах, окрашенных по Маллори, с использованием программы ИТЕМ (Olympus) следующим образом: отношение площади рубца к площади стенки левого желудочка умножали на 100% [3].

Структура и характер данных позволяли использовать метод двухфакторного дисперсионного анализа. Анализ данных индекса площади рубца (ИПР) осуществлялись с применением непараметрических (ранговых) методов — однофакторного дисперсионного анализа по Краскелу-Уоллесу и сравнения некоррелированных данных методом Манна-Уитни. Построение диаграммы осуществлялось в программе Statistica 6,0.

Результаты

При исследовании миокарда животных, выведенных их эксперимента на 50 сут., было выявлено, что ремоделирование ткани крыс в контрольной группе заканчивалось формированием рубца и аневризмы. Плотная оформленная волокнистая соединительная ткань была инфильтрирована преимущественно

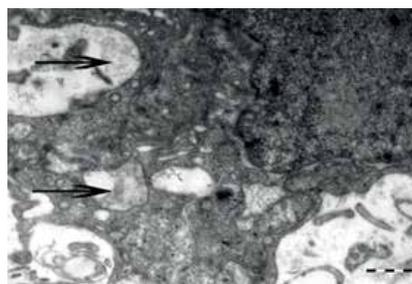


Рис. 3. Макрофаг, содержащий крупные фагоцитарные вакуоли с фрагментами коллагеновых волокон БМА через 7 суток после его имплантации (↑). Электронограмма.

фибробластическими и гладкомышечными клетками. Вазкулярный рисунок обеднен. При окраске по Маллори четко идентифицировалась мышечная и соединительная ткани, что позволило определить площадь рубца.

В то же время, оказалось, что в опытной группе межындивидуальные различия значений ИПР (его индикатор Sd) были статистически значимо ($p < 0,01$) выше, чем в контрольной группе по F-критерию Фишера. Однако межгрупповые значения площади рубца левого желудочка в опытной группе оказались различны и статистически значимы. В опытной группе ИПР составил $14,03 \pm 6,31 \text{ мкм}^2$, что в 1,66 раз меньше чем в контрольной группе (рис. 1 А, В), где этот показатель соответствовал уже $23,3 \pm 2,44 \text{ мкм}^2$ (t-критерий $p < 0,0005$, по критерию Манна-Уитни $p < 0,003$).

При исследовании морфологической картины на начальных стадиях постинфарктного ремоделирования, в миокарде наблюдалась выраженная клеточная гетероморфия ишемизированной зоны. Так, к 7-м суткам в периинфарктной зоне сердец крыс опытной группы определялись признаки формирующейся грануляционной ткани, представленной рыхлой волокнистой соединительной тканью (рис. 2 А, В). На микропрепаратах видны тонкие коллагеновые волокна, имеющие неупорядоченное разновекторное расположение с расширенными свободными межволоконными промежутками. Зона некроза была ограничена от неповрежденного миокарда клеточным валом, представляющим демаркационную зону. Волокна были инфильтрированы макрофагами, фибробластами, мезенхимными клетками, лимфоцитами и стволовыми с-*kit*⁺ клеткам. Выявлялась обильная сеть кровеносных сосудов с расширенными просветами. Присутствовали недифференцированные кровеносные сосуды.

Частицы БМА резорбировались макрофагами и спустя 14 сут. в миокарде не определялись (рис. 3). Преимущественно в периинфарктной зоне выявлялись скопления малодифференцированных клеток и молодых кардиомиоцитов (рис. 4 А, В). Спустя 50 сут. заживление экспериментального инфаркта мио-

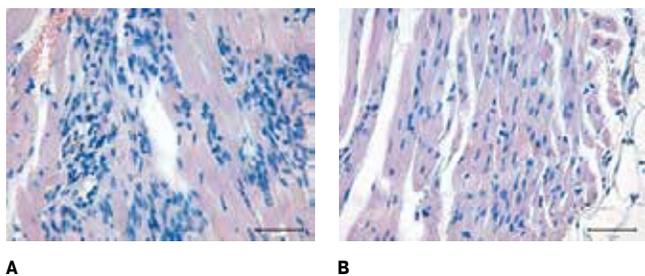


Рис. 4 (А, В). Клеточная гетероморфия периинфарктной зоны после введения БМА через 14 суток. **А** — Малодифференцированные клетки миокарда. **В** — Молодые кардиомиоциты в периинфарктной зоне. Окраска гематоксилином и эозином.

карда после введения БМА заканчивалось формированием мышечно-соединительнотканного регенерата без образования аневризмы.

В контрольной группе, через 7 сут. после окклюзии коронарной артерии в миокарде левого желудочка определялись признаки коагуляционного некроза. В поражённом участке отмечалась высокая плотность клеток воспалительного экссудата (нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты). Наблюдались признаки крупноочагового некроза стенки левого желудочка. Со стороны кардиомиоцитов выявлялся восковидный некроз, зернистая дистрофия, утрата клетками поперечной исчерченности, пикноз ядер. В строме перифокальной области наблюдались признаки отека, очаги кровоизлияний, геморрагическое пропитывание. В кровеносных сосудах выявлялось краевое стояние и эмиграция лейкоцитов (рис. 5).

Спустя 14 сут. в контрольной группе в данном сроке вокруг детрита выявлялась инфильтрация различного рода макрофагальными клетками: фагоцитами, эпителиоидными клетками, гигантскими клетками инородных тел и клетками Пирогова-Лангханса в присутствии лимфоцитов и фибробластов. Регенерат перифокальной и центральных зон характеризовался разрастанием аваскулярной плотной волокнистой соединительной ткани. К окончанию эксперимента (50 сут.) происходило формирование грубоволокнистого рубца и образование аневризмы сердечной стенки за счет высокой гидродинамической нагрузки и несостоятельности регенерата.

При исследовании репаративного клеточного потенциала миокарда выявлено, что существует определенная зависимость численности $GATA4^+$ клеток от сроков наблюдения, как в опытной, так и в контрольной группах ($\chi^2=33,1$, $p<0,0001$ и $\chi^2=42,4$, $p<0,0001$, соответственно). В обеих группах численность клеток статистически значимо снижалась от начала к концу наблюдений. При этом на 7-й день число $GATA4^+$ клеток в опытной группе превышало значения контрольной группы (медиана 119, 96-170 против 45, 33-56). К 45-м суткам после

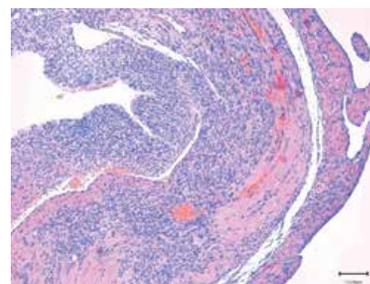


Рис. 5. Коагуляционный некроз миокарда в контрольной группе через 7 суток после введения физ. раствора. Окраска гематоксилином и эозином.

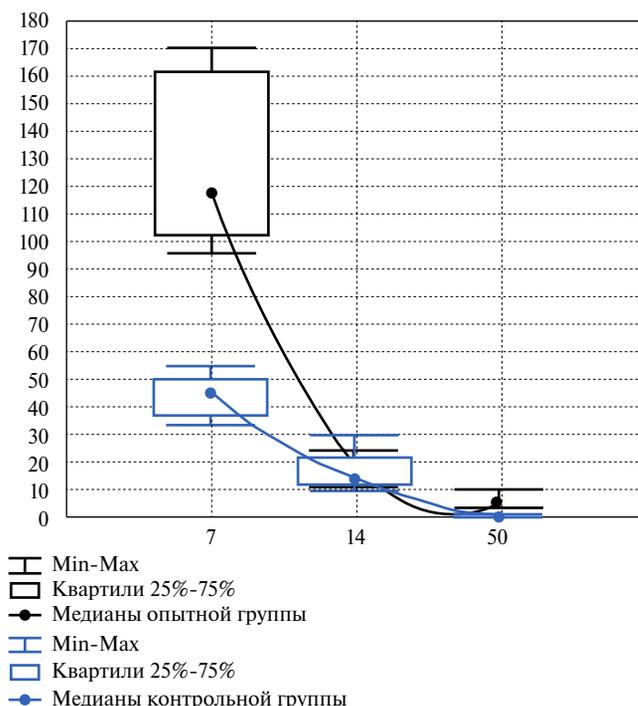


Рис. 6. Динамика численности $GATA-4^+$ клеток в реактивной зоне миокарда в основной и контрольной группе. По оси абсцисс — сроки наблюдения (дни). По оси ординат количество $GATA-4^+$ клеток в полях зрения.

инъекций БМА и физ. раствора, соответственно, присутствие клеток статистически значимо ($p<0,0001$) снижалась в обеих группах. Так, медианы в опытной и контрольных группах составляли только 5 (4-10) и 1 (0-1), соответственно. Однако и к этому сроку в опытной группе численность $GATA4^+$ клеток была значимо выше, чем в контрольной группе ($Z=4,7$, $p<0,0001$) (рис. 6).

При гистохимическом определении гликозаминогликанов (ГАГ) в реактивной зоне миокарда в начальные сроки исследования через 7 сут. в опытной группе, в отличие от контрольной, были выявлены сульфатированные (дерматан- и кератансульфаты) и несulfатированные ГАГ. К 14-м суткам сульфатированные и несulfатированные ГАГ выявлялись

Сутки	7		14		50	
	pH 1,0	pH 2,5	pH 1,0	pH 2,5	pH 1,0	pH 2,5
Опытная группа (БМА)						
	+	+	+	+	+	+
Контрольная группа (физ. раствор)						
	-	-	+	+	+	-
	положительная реакция	положительная реакция	положительная реакция	положительная реакция	положительная реакция	положительная реакция
	отрицательная реакция	отрицательная реакция	положительная реакция	положительная реакция	положительная реакция	отрицательная реакция

Рис. 7. Присутствие ГАГ в миокарде крыс на разных сроках наблюдения. Окраска альциановым синим при pH 1,0 и pH 2,5 после метилирования с докраской нейтральным красным.

в обеих группах. И в опытной, и в контрольной группах в конце эксперимента (50 сут.) определялись сульфатированные ГАГ, тогда как присутствие несulfатированных ГАГ (гиалуриновая кислота (ГК)) к этому времени было характерно только для миокарда крыс опытной группы (рис. 7).

Обсуждение

Анализ результатов гистологических исследований миокарда крыс контрольной группы, позволяет сказать, что наблюдаемые изменения и динамика смены стадий воспаления, в рассматриваемые контрольные точки, соответствуют колликвационному некрозу вследствие выраженной ишемии. Так, для 7-х суток характерна стадия альтерации и экссудации миокарда. На 14-е сутки она сменялась пролиферативной стадией воспаления, которая к 50-м суткам завершалась заживлением в виде рубцевания и развития аневризмы.

Для миокарда крыс опытной группы, отмечалось наступление более ранней, уже на 7 сутки, пролиферативной стадии воспаления с синтезом стромальных элементов и инфильтрацией соединительнотканых клеток. Такое соотношение дает основание говорить о том, что присутствие в зоне поражения БМА, через систему монокинов, влияет на каскад воспалительных реакций и способствует ангиогенезу. Правомерность такого заключения подтверждается тем, что в миокарде крыс контрольной группы ангиогенез в эти же сроки наблюдения был не выражен. Вероятно, недостаточная васкуляризация провоцирует развитие гипоксии и манифестирует “вторичную волну некроза” с расширением зоны рубцового перерождения сердечной мышцы.

В реактивной зоне миокарда всех крыс выявлены стволовые c-kit⁺ клетки и клетки GATA4⁺, относящи-

еся к кардиомиобластической стадии дифференциации. Считается, что хоуминг прогениторных клеток обусловлен накоплением витронектина — белка экстрацеллюлярного матрикса, высвобождающегося в результате перераспределения экстраклеточного матрикса в начальные сроки ремоделирования повреждённого миокарда. [4]. В нашем исследовании показано, что интрамиокардиальное введение БМА в подострую фазу ИМ обеспечивало трехкратное увеличение GATA4⁺ клеток в экссудативной стадии воспаления. Именно их дальнейшая дифференцировка в кардиомиоциты с интегрированием в структуру сердечной мышцы обеспечивает сохранение функциональной состоятельности миокарда перинфарктной зоны.

Идентификация специфических сигнальных сетей и “главных” регуляторных генов, управляющих уникальными линиями дифференциации недифференцированных клеток, остается сложной задачей. В нашем исследовании для миокарда крыс опытной группы было характерно более раннее наступление пролиферативной фазы воспаления (7-е сутки), что выразилось формированием грануляционной ткани уже на начальных сроках ремоделирования миокарда. Этот процесс сопровождался экспрессией ГК клетками соединительной ткани и макрофагами. Присутствие ГК выявлено как в цитоплазме указанных клеток, так и в межклеточном матриксе. В контрольной группе присутствие несulfатированных ГАГ в сроке 7 сут., выявлено не было. В дальнейшем через 14 сут. ситуация выравнивалась. Сульфатированные и несulfатированные ГАГ определялись в миокарде крыс обеих групп, что объясняется ремоделированием рубца и формированием соединительнотканного регенерата. Однако в опытной группе присутствие ГК уверенно определялось вплоть до 50 сут.

Наиболее значимой на наш взгляд является начальная стадия воспаления, которая является ключевой и определяет последующее гистогенетическое развитие. Известно, что кардиомиогенез происходит только в начальные сроки воспаления, что согласуется с результатами наших ранее проведенных исследований [1, 5]. В настоящем исследовании показано, что применение БМА в подострой фазе ИМ обеспечило наличие ГК уже в начальной фазе воспаления, что сопровождалось интенсивной инфильтрацией стволовых $c\text{-kit}^+$ клеток и прогениторных кардиомиогенных клеток (GATA4^+). Сопряжение этих факторов представляется вполне логичным и хорошо согласуется с данными о том, что ГК составляет до 40% всех ГАГ в костном мозге [6] и является обязательным компонентом сред для поддержания роста эмбриональных стволовых клеток человека в недифференцированных массах, так называемых эмбрионидных тельцах [7]. Полученный нами результат согласуется с данными о позитивной роли ГК, даже без наличия ростовых факторов и клеток в регенерации подострой и острой стадий экспериментального ИМ [8].

Известно, что при биодеградации используемого нами БМА происходит высвобождение ГК и сульфатированных ГАГ [9]. При этом показано, что данные вещества активно фагоцитируются макрофагами и способствуют их диффузному распространению в новообразованной грануляционной ткани, формируя тип последующего регенерата. В настоящее время установлено, что ГК обладает противовоспалительным эффектом, ингибирует миграцию воспалительных клеток, поддерживает рост, дифференциацию тканеспецифичных клеток и усиливает скорость их миграции [10, 11]. Экзогенно введенная ГК и/или сульфатированные ГАГ как молекулы пространственного наполнения и гидратации тканей определяют барьерную и защитную функции экстрацеллюлярного пространства, формируют временный матрикс ингибируют рубцевание за счет супрессии фиброзирующих клеточных факторов и снижения адгезии фибробластических клеток в регенерате [12]. ГАГ и ГК отводится важная роль регулятора гистогенеза на пренатальном этапе развития тканей и органов [13]. Напротив, в постнатальном периоде развития резко снижается как содержание этих соединений, так и пул малодифференцированных клеток [14].

Компоненты внеклеточного матрикса, в частности ГК, оказывают влияние не только на дифференцировку стволовых клеток, но и на поддержку их в недифференцированном состоянии в “клеточных нишах”. В ходе нормального эмбриогенеза эмбрио-

нальные стволовые клетки человека дифференцируются по различным линиям в контексте сложных трехмерных тканевых структур, где важную роль в этом процессе играют внеклеточный матрикс и различные факторы роста. Трехмерный экстрацеллюлярный матрикс обеспечивает структурную поддержку для более высокого уровня организации и ремоделирования ткани [15]. А в постнатальном развитии количество ГАГ и малодифференцированных клеток резко снижается [14].

Известно, что аллогенный биоматериал является ингибитором фиброза, подавляет миграцию фибробластических клеток, регулирует их фенотип и синтетическую активность [9]. Следовательно, продукты биодеградации БМА локально создают условия приближенные к пренатальным. Происходит миграция стволовых клеток с последующей дифференцировкой в юные кардиомиоциты под влиянием клеток тканеспецифичного ложа (морфогенетических белков/поля) на фоне снижения фиброза.

Заключение

В ишемическом миокарде БМА, имплантированный через 5 сут. после коронароокклюзии, способствовал снижению площади рубца и изменению характера ремоделирования регенерата. Площадь рубца была снижена в 1,66 раз. Продукты биодеградации аллогенного биоматериала содействовали регулированию стромально-клеточных взаимоотношений, инициирующей раннюю пролиферативную стадию и ингибирование каскада воспалительных реакций. Наступление более ранней пролиферативной фазы воспаления свидетельствует об оказании противовоспалительного эффекта, где весомую роль могут оказывать ГАГ. Продуктами биодеградации БМА являются: коллаген, сульфатированные (дерматан- и кератансульфат) и несulfатированные ГАГ (ГК). Частицы БМА являются эффективным хемоаттрактантом стволовых клеток, а продукты резорбции биоматериала обеспечивают микроокружение, способствующее их дифференциации в тканеспецифичном кардиомиогенном направлении даже в подострой стадии ИМ. Для более эффективного нивелирования рубца миокарда планируется увеличить дозу БМА.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания: регистрационный номер НИОКР № 056-00110-18-00.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Lebedeva A. I., Muslimov S. A., Gareev E. M., et al. Stimulation of autologous progenitor cells and committed cells in ischemically damaged myocardium. Russian Journal of Cardiology. 2018;(11):123-9. (In Russ.) Лебедева А. И., Муслимов С. А., Гареев Е. М. и др. Стимуляция аутологических прогениторных и коммитированных клеток в ишемически поврежденном миокарде. Российский кардиологический журнал. 2018. 23(11):123-9. doi:10.15829/1560-4071-2018-11-123-129.
2. Guidance on laboratory animals and alternative models in biomedical research. Ed. NN. Karkishchenko, SV Grachev. M.: Profile-2С. 2010:358. (In Russ.) Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. Под ред. Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачева. М.: Профиль-2с. 2010: с. 358.
3. Shao Zh, Takaji K, Katayama Y, et al. Effects of Intramyocardial Administration of Slow-Release Basic Fibroblast Growth Factor on Angiogenesis and Ventricular Remodeling in a Rat Infarct Model. Circ J. 2006;70:471-7.
4. Dergilev KV, Cokolaeva ZI, Beloglazova IB, et al. Urokinase receptor regulates the adhesion of heart progenitor cells to vitronectin. Byulleten ehksperimentalnoj biologii i mediciny. 2019;167(3):283-7. (In Russ.) Дергилев К. В., Цоколаева З. И., Белоглазова И. Б. и др. Урокиназный рецептор регулирует адгезию прогениторных клеток сердца к витронектину. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019;167(3):283-7.
5. Muldashev ER, Lebedeva AI, Muslimov SA, et al. Allogenic biomaterial — an inducer of autologous stem and committed myocardial cells in ischemic damaged myocardium. Practical Medicine. 2019;17(1):89-94. (In Russ.) Мулдашев Э. Р., Лебедева А. И. Муслимов С. А. и др. Аллогенный биоматериал — индуктор аутогенных стволовых и коммитированных клеток миокарда в ишемически поврежденном миокарде. Практическая медицина. 2019;17(1):89-94. doi:10.32000/2072-1757-2019-1-89-94.
6. Khlusov IA, Litvinova LS, Yurova KA, et al. Modeling of the mesenchymal stem cell microenvironment as a prospective approach to tissue bioengineering and regenerative medicine (a short review). Bulletin of Siberian Medicine. 2018;17(3):217-28. (In Russ.) Хлусов И. А., Литвинова Л. С., Юрова К. А. и др. Моделирование микроокружения мезенхимных стволовых клеток. Бюллетень сибирской медицины. 2018;17(3):217-28. doi:10.20538/1682-0363-2018-3-217-228.
7. Gerecht Sh, Burdick JA, Ferreira LS, et al. Hyaluronic acid hydrogel for controlled self-renewal and differentiation of human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(27):11298-303. doi:10.1073/pnas.0703723104.
8. Yoon SJ, Hong S, Fang YH, et al. Differential regeneration of myocardial infarction depending on the progression of disease and the composition of biomimetic hydrogel. J. Biosci. Bioeng. 2014;118:461-8. doi:10.1016/j.jbiosc.2014.04.001.
9. Lebedeva AI. Regulation of parenchymal-stromal relationship for the correction of defects of skeletal muscle allogenic biomaterial. Experimental and clinical dermatocosmetology. 2014;1:51-6. (In Russ.) Лебедева А. И. Регуляция паренхиматозно-стромальных взаимоотношений при коррекции дефектов скелетной мышцы аллогенным биоматериалом. Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. 2014;1:51-6.
10. Moreno A, Martínez A, Olmedillas S, et al. Hyaluronic acid effect on adipose-derived stem cells. Biological in vitro evaluation. Rev Esp Cir Ortop Traumatol. 2015;59(4):215-21. doi:10.1016/j.recot.2014.10.004.
11. Foschi D, Castoldi L, Radaelli E, et al. Hyaluronic acid prevents oxygen free-radical damage to granulation tissue: a study in rats. Int J Tissue React. 1990;12(6):333-9.
12. Park JS, Lee JH, Han ChS, et al. Effect of Hyaluronic Acid-Carboxymethylcellulose Solution on Perineural Scar Formation after Sciatic Nerve Repair in Rats. Clinics in Orthopedic Surgery. 2011;3:315-24. doi:10.1007/s00068-016-0683-4.
13. Klishov AA. Histogenesis and tissue regeneration. L.: Medicina, 1984, 232 p. (In Russ.) Клишов А. А. Гистогенез и регенерация тканей. Л.: Медицина, 1984: 232 с.
14. Ly DH, Lockhart DJ, Lerner RA, et al. Mitotic misregulation and human aging. Science. 2000;287:2486-92. doi:10.1126/science.287.5462.2486.
15. Danilov RK. Wound process: histogenetic basis. Petersburg, MMA named SM Kirov., 2008: 308 p. (In Russ.) Данилов Р. К. Раневой процесс: гистогенетические основы. СПб: ВМедА им. С. М. Кирова, 2008: 308 с.