

Макрофаги как регуляторы гомеостаза миокарда после его ишемического повреждения в условиях применения аллогенного биоматериала

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

¹ *Всероссийский центр глазной и пластической хирургии
Россия, 450075, г. Уфа, ул. Р. Зорге, 67/1*

² *Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а*

РЕЗЮМЕ

Ведение. Макрофаги как клетки-эффекторы играют ключевую роль в инициации воспалительного процесса, определяют выраженность постинфарктного кардиосклероза. Популяция этих клеток является гетерогенной и представлена преимущественно М1 и М2 фенотипами. Аллогенный биоматериал аллоплант (БМА) резорбируется макрофагами, продукты резорбции влияют на их способность регулировать клеточные взаимодействия.

Цель. Раскрыть особенности постинфарктного заживления миокарда после введения БМА. Оценить динамику изменения численности макрофагов и с-kit⁺-клеток.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования были проведены на 100 самцах крыс линии Вистар массой 0,18–0,25 кг. Всем животным была проведена коронароокклюзия верхней трети левой нисходящей коронарной артерии. В опытной группе сразу после стенозирования артерии в ее бассейн интрамиокардиально вводили суспензию, содержащую 12 мг БМА. Использовали гистологические, электронно-микроскопические, иммуногистохимические (CD 68, с-kit, Timр-2), морфометрические и статистические методы исследования. Забор сердец проводили через 3, 7, 14, 30, 45 сут.

Результаты. В опытной группе течение воспалительного процесса характеризовалось наступлением ранней пролиферативной стадии, в то время как в контрольной развивался колликвационный некроз. Группы характеризовались различной степенью выраженности макрофагальной реакции. Число CD68⁺-клеток в реактивной зоне в контрольной группе было больше, чем у опытной группы. Напротив, в опытной группе выявлены БМА-индуцированные макрофаги мезенхимного происхождения, а численность с-kit⁺-клеток была значительно больше, чем в контроле. Спустя 45 сут индекс площади рубца в опытной группе был статистически значимо меньше, чем в контроле.

Заключение. БМА в условиях острого ишемического поражения миокарда оказывал гистопротекторный эффект за счет ингибирования миграции макрофагов и индукции клеточного кардиомиогенеза.

Ключевые слова: биоматериал аллоплант, площадь рубца, миокард.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания: регистрационный номер НИОКР 115040870057 от 8.04.2015 г.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Всероссийского центра глазной и пластической хирургии (протокол № 31 от 12.10.2015).

✉ Лебедева Анна Ивановна, e-mail: Jeol02@mail.ru.

Для цитирования: Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М., Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Попов С.В. Макрофаги как регуляторы гомеостаза миокарда после его ишемического повреждения в условиях применения аллогенного биоматериала. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 67–75. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-67-75>.

Macrophages as homeostatic regulators in the ischemically damaged myocardium after use of allogenic biomaterial

Lebedeva A.I.¹, Muslimov S.A.¹, Gareev E.M.¹, Afanasiev S.A.², Condratyeva D.S.², Popov S.V.²

¹ Russian Eye and Plastic Surgery Centre
67/1, R. Zorge Str., 450075, Ufa, Russian Federation

² Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Centre
Kievskaya Str., 111a, Tomsk, 634012, Russian Federation

ABSTRACT

Macrophages as the effector cells play a key role in initiating the inflammatory process and predetermine the manifestation of the postinfarction cardiosclerosis. The population of these cells is heterogenous and is mainly represented by M1 and M2 phenotypes. Alloplant biomaterial (ABM) is resorbed by the macrophages which became the regulators of the cellular interaction in tissues.

The aim of the investigation was to reveal the peculiarities of the postinfarction healing of the myocardium following the ABM insertion and to assess the population change in the dynamics of macrophages and c-kit⁺ cells.

Materials and methods. The experimental investigations were carried out on 100 male Wistar's rats weighing 0.18–0.25 kg. All the animals had coronary occlusion by way of ligating the arteries. In the experimental group, the ABM (12 mg) suspension was intramyocardially administered simultaneously with the vessel stricture formation. The harvesting of hearts was carried out at 3, 7, 14, 30, 45 days.

Results. In the experimental group the course of the inflammatory process was characterized by the onset of the early proliferative stage, whereas in the control group colliquative necrosis was developing. It was caused by different degrees of the macrophage reaction expression. The number of CD68⁺ cells in the rat reactive zone of the control group was bigger than in the experimental one. In the experimental group the ABM-induced macrophages of mesenchyme origin were revealed and c-kit⁺ cells were considerably more in number than in the control one. After 45 days, the scar area index in the experimental group was significantly less than in the control group.

Conclusion. ABM had a histoprotective effect under the conditions of the acute myocardial ischemia due to the inhibition of macrophage migration and induction of cellular cardiomyogenesis.

Key words: alloplant biomaterial, scar area, myocardium.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The work was performed within the state assignment: R&D registration number 115040870057 dated 08.04.15.

Conformity with the principles of ethics. The study was supported by the local Ethics Committee at the Russian Eye and Plastic Surgery Centre (Protocol No. 31 of 12.10.2015).

For citation: Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Gareev E.M., Afanasiev S.A., Condratyeva D.S., Popov S.V. Macrophages as the homeostasis regulators in the ischemically damaged myocardium in condition of the use of allogenic biomaterial. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 67–75. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-67-75>.

ВВЕДЕНИЕ

Установлено, что при использовании аллогенного биоматериала «Аллоплант» (БМА) ключевыми клетками гистииона при регенерации волокнистой соединительной и скелетной мышечной ткани являются макрофаги с фенотипом M1, доля которых значительно превышает численность данных клеток в контрольных группах, где нанесение дефекта не сопровождалось применением биоматериала [1, 2]. Показано, что использование БМА оказывает положительное влияние на состояние сердечной мышцы и улучшает ее структуру после ишемического повреждения [3]. БМА биодеградирует в ткани, а его продукты резорбции являются хемоаттрактантом стволовых прогениторных клеток, которые индуцируют процесс регенерации [4, 5]. Существуют противоположные точки зрения о негативной роли M1 макрофагов в процессе заживления ишемически поврежденного миокарда как ключевых клеток-промоторов повреждения кардиомиоцитов, манифестации воспаления и прогрессирования фиброза [6]. В связи с изложенными данными, исследование вовлеченности макрофагов в воспалительно-дегенеративные процессы, развивающиеся в сердечной мышце после экспериментальной коронароокклюзии и на фоне использования БМА, представляются актуальными.

Цель исследования – раскрыть особенности постинфарктного заживления миокарда при введении БМА и оценить динамику изменения численности макрофагов и c-kit⁺-клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте было использовано 100 самцах крыс породы Вистар массой 0,18–0,25 кг. Животные были разделены на две экспериментальные группы. В контрольной группе ($n = 50$) моделирование инфаркта миокарда осуществляли следующим образом: у животных, находящихся под общим наркозом (внутримышечная инъекция золетила), выполняли левостороннюю торакотомию с последующим наложением лигатуры в верхней трети *r. interventricularis paraconalis a. coronarii sin.* левого желудочка. Крысам основной группы ($n = 50$) сразу после лигирования коронарной артерии в сердечную мышцу в зоне ее бассейна вводили 12 мг БМА, суспендированного в физиологическом растворе. Доза БМА была выбрана произвольно. Крыс в обеих группах выводили из эксперимента путем передозировки летальной дозы паров эфира спустя 3, 7, 14, 30, 45 сут.

Экспериментальные исследования выполнялись в соответствии с Правилами лабораторной

практики в Российской Федерации, согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Strasbourg, 1986), а также согласно утвержденному письменному документу, в соответствии со стандартными процедурами исследователя и руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в медицинских исследованиях [7]. Аллогенный биоматериал аллоплант разработан в ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ г. Уфы. Указанный трансплантат изготавливается согласно ТУ 42-2-537-87, сертифицирован и разрешен к использованию в клинической практике приказом МЗ СССР № 87 901-87 от 22.07.1987 г. Для настоящего исследования аллогенный биоматериал изготавливали из сухожилий крыс и измельчали до размера частиц 50–80 мкм.

Для гистологического исследования сердца фиксировали в 10%-м растворе формалина нейтрального, обезвоживали в серии растворов спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по традиционной методике. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), затем окрашивали гематоксилином и эозином по Маллори. Для определения зоны постинфарктного рубца, каждое сердце иссекали поперек на пять секторов. Индекс площади рубца (ИПР) измеряли на препаратах поперечных срезов органов, используя программы ИТЕМ, таким образом: отношение площади рубца к площади стенки левого желудочка умножали на 100%.

Для иммуногистохимического исследования срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали при помощи иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond (Германия). В качестве первичных антител использовали: CD 68, c-kit, Timp-2 в разведении 1 : 300 (Santa Cruz Biotechnology, США). Проводили одиночное и двойное иммуномечение клеток к исследуемым антителам. Для демаскировки применили непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra, Германия). Определение специфичности реакции производили при окрашивании срезов без первичных антител. Подсчет положительно окрашенных клеток производили в 20 полях зрения каждого образца ($n = 6$), $\times 400$. Исследование и визуализацию препаратов анализировали с использованием светоптического микроскопа Leica DMD 108 (Германия) со специальным программным обеспечением управления настройками и захвата изображения.

Для ультрамикроскопического исследования иссекали кусочки миокарда размером 1–2 мм³, которые для фиксации погружали в 2,5%-й

раствор глутаральдегида, изготовленного на какодилатном буфере (рН 7,2–7,4) с дополнительной фиксацией в 1%-м растворе OsO₄ на том же буфере. Материал обезжировали в растворах спиртов возрастающей концентрации и заливали в эпон-812. На ультратоме EM UC 7 (Leica, Германия) изготавливали полутонкие срезы и обрабатывали их раствором толудинового синего на 2,5%-м растворе безводной соды. На срезах находили участки для ультрамикроскопического исследования. Электронно-микроскопические срезы контрастировали 2%-м водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу и исследовали в просвечивающем микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония).

Анализ данных ИПР осуществляли с использованием непараметрических методов – однофакторного дисперсионного анализа по Краскелу – Уоллису и методом Манна – Уитни [8]. Построение диаграммы производили в программе Statistica 6,0 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Процесс заживления ишемически поврежденного миокарда в контрольной группе и при использовании БМА (основная группа) имел существенные различия (рис. 1). Данные ИПР в опытной группе незначимо зависели от сроков

наблюдения ($\chi^2 = 5,7, p > 0,12$). Однако значения этого показателя со временем имели тенденцию к постепенному снижению по отношению к начальному уровню. Медиана распределения к 7-м сут составляла 22,7% (0%, 43,3%) и значимо ($p = 0,03$) снижалась на 14-е сут до 13,4% (0%, 22,2%). В период 30–45 сут наблюдалось снижение ИПР до 16% (0%, 32,1%) и 5,2% (0%, 33,8%) ($p = 0,14$ и $p = 0,02$ соответственно). Между 14-, 30- и 45-ми сут различия оказались статистически незначимыми ($p = 0,23 \div p = 0,75$). Как видно, нулевые значения ИПР (отсутствие рубца миокарда) имели место уже спустя 7 сут после коронароокклюзии. При этом на 7-е сут это было единственное значение (6%), а в последующие сроки таковых стало три (19÷23%). В контрольной группе зависимость ИПР от сроков наблюдения также оказалась статистически незначимой ($\chi^2 = 6,3, p = 0,10$). Отличия уровня ИПР от исходного (7-е сут) оказались статистически значимыми лишь на 30-е сут ($p = 0,01$). На рис. 1 видно, что на протяжении всего периода наблюдения в контрольной группе не было случаев нулевых значений ИПР. Сравнение обеих экспериментальных групп в различные сроки исследования показало, что при имплантации БМА на всех сроках наблюдения ИПР был статистически значимо меньше, чем в контроле ($p = 0,01 \div p < 0,0001$).



Рис. 1. Индекс площади рубца в опытной и контрольной группах (а): по оси абсцисс – сроки наблюдения (сут), по оси ординат – ИПР (%). Поперечный срез миокарда через 45 сут в контрольной группе (b); опытной группе (с), ×40. Окраска по Маллори

Большое значение в прогрессировании фиброза и манифестации рубца отводится макрофагальным клеткам [6]. В контрольной группе в реактивной зоне ишемически поврежденной сердечной мышцы численность макрофагов CD68⁺ превышала значения опытной группы практически на всем протяжении эксперимента (рис. 2).

В контрольной и опытной группах тенденция к подъему и последующему спаду численности клеток была высоко значима ($\chi^2 = 76,3, p << 0,0001$ и $\chi^2 = 45,2, p << 0,0001$ соответственно). Количество клеток CD68⁺ в контрольной группе статистически значимо превышало их численность в опытной группе в период наблюдения, 3–14-е сут

($p = 0,003$ и менее). В период 30–45 сут происходило затухание процессов ремоделирования миокарда и формирование рубца, что обуславливало снижение численности макрофагов в обеих

группах вплоть до отсутствия значимых различий ($p = 0,12$) на 45-е сут и трансформацию экссудативно-пролиферативной фазы воспаления в стадию заживления.

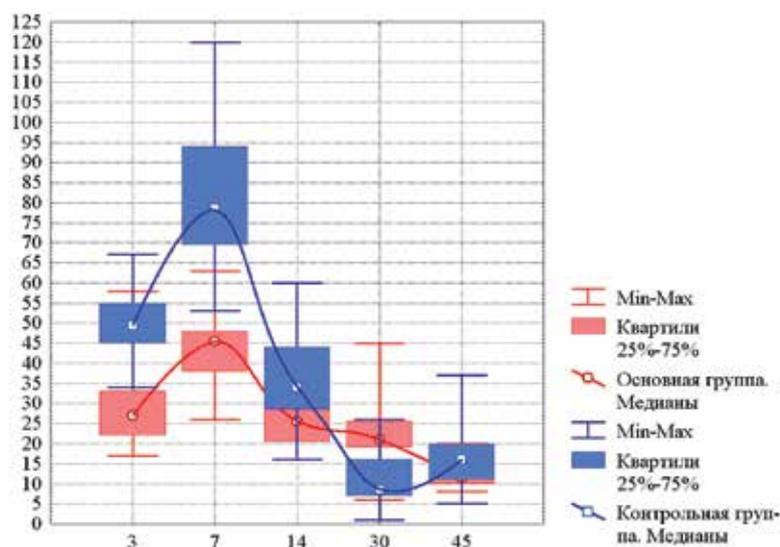
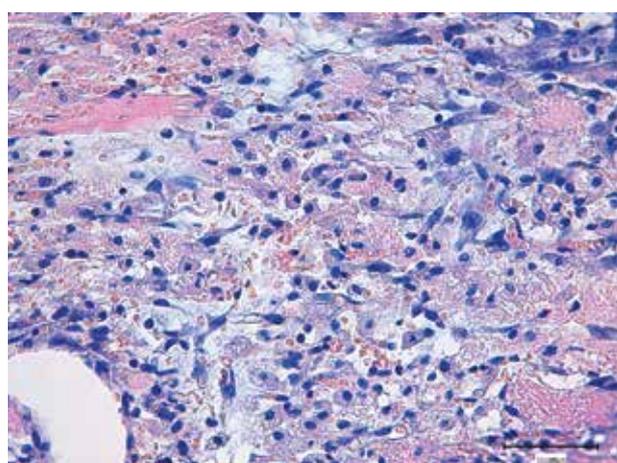


Рис. 2. Численность CD68⁺-макрофагов в миокарде крысы в опытной и контрольной группах: по оси абсцисс – срок наблюдения, сут, по оси ординат – число клеток

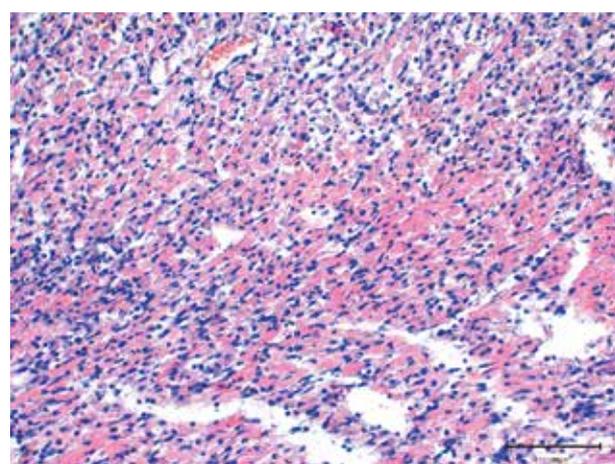
Оценивая динамику патоморфологических изменений, выявлено, что в перифокальной зоне ишемически поврежденного миокарда опытной группы начальная стадия воспаления (3-е сут) характеризовалась ранним наступлением пролиферативной фазы и формированием грануляционной ткани. Здесь определялись тонкие коллагеновые волокна, мезенхимная и макрофагально-фибро-

бластическая инфильтрация (рис. 3, *a*). В контрольной группе на месте разрушающихся кардиомиоцитов формировался широкий клеточный вал, состоящий из макрофагов, лимфоцитов, нейтрофилов (рис. 3, *b*).

В настоящем исследовании в обеих группах с-kit⁺-клетки определялись преимущественно в перинфарктной и периваскулярной зонах.



a



b

Рис. 3. Морфологические изменения в миокарде крысы: *a* – формирование грануляционной ткани в перифокальной зоне, инфильтрация макрофагами, мезенхимными клетками, фибробластами через 3 сут после коронароокклюзии и введения БМА; *b* – макрофагально-лимфоцитарный клеточный вал в зоне некротически измененных кардиомиоцитов через 3 сут после коронароокклюзии. Окраска гематоксилином и эозином

При этом, несмотря на аутогенное происхождение стволовых клеток $c-kit^+$ и отсутствие факторов антигенности, они подвергались фагоцитозу макрофагами (рис. 4, *a*). Также на электронно-микроскопическом уровне были зафиксированы многочисленные макрофаги, фагоцитирующие недифференцированные клетки. В фагоцитарных вакуолях определялись фрагменты цитоплазмы и пикнотичных ядер. При этом макрофагальные клетки проявляли признаки ак-

тивации. Ядра овальные с большим содержанием эухроматина, в расширенном ободке цитоплазмы определялись множественные округлые крупные митохондрии с затемненным матриксом и параллельно ориентированными ламеллярными кристами. Цитолемма образовывала глубокие инвагинации. Был хорошо развит аппарат Гольджи с удлинненными уплощенными цистернами, сложенными в стопки, от которых отшнуровывались везикулы (рис. 4, *b*).

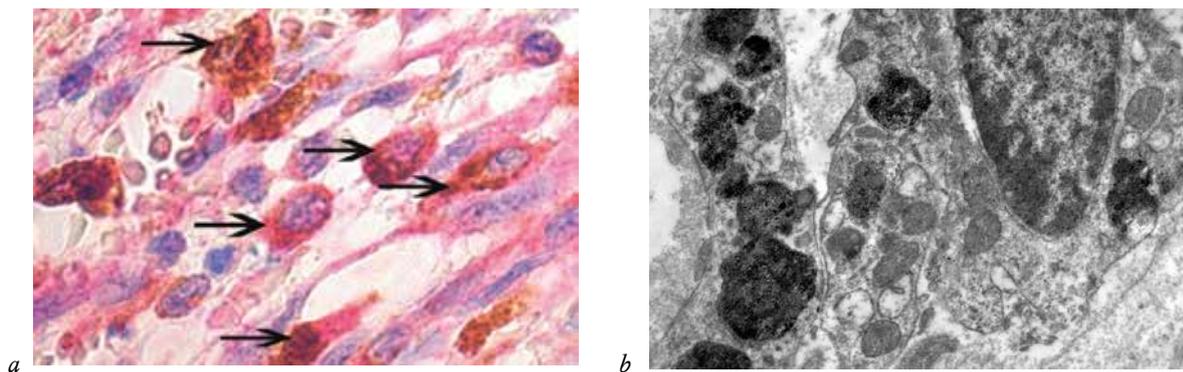


Рис. 4. Электронограмма фагоцитирующих макрофагов через 7 сут после коронароокклюзии: *a* – CD68 (коричневый цвет), $c-kit$ (красный цвет). Гранулы хромогена выявляются в цитоплазме макрофагов. Непрямой двойной метод иммунопероксидазного выявления антигена с докраской гематоксилином, $\times 600$; *b* – макрофаг фагоцитарного типа с вакуолями клеточного детрита, $\times 10\ 000$

При исследовании свободных $c-kit^+$ -клеток, которые не подвергались резорбции макрофагами, было выявлено, что их численность как в контрольной, так в основной группе статистически значимо снижалась ($\chi^2 = 92,6$, $p << 0,0001$ и $\chi^2 = 40,4$, $p << 0,0001$ соответственно). При этом в контрольной группе число таких клеток с 14 сут падало до 0–1–2. В основной группе их

число также значимо снижалось, но оставалось достоверно ($p < 0,0001$) выше, чем в контрольной группе, на всем протяжении периода наблюдений (рис. 5).

В зоне имплантации БМА в субэпикардальном пространстве обнаруживались макрофаги, окрашивающиеся позитивно при окраске по Хейлу и экспрессирующие $Timp-2$ (рис. 6).

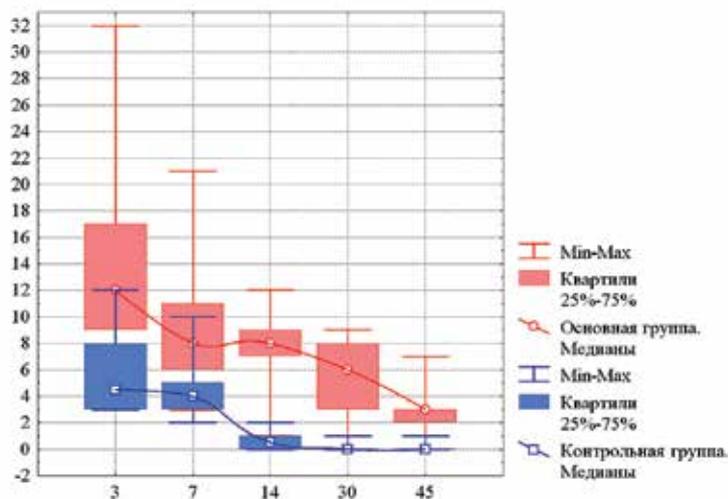


Рис. 5. Численность свободных $c-kit^+$ -клеток в миокарде крысы в основной и контрольной группе: по оси абсцисс – сут, по оси ординат – количество клеток

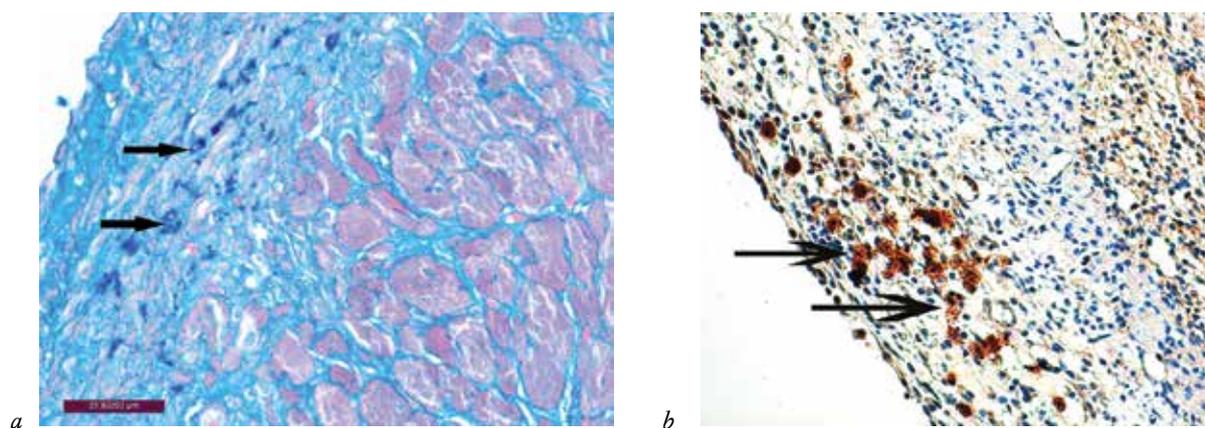


Рис. 6. Макрофаги в субэпикардальном пространстве после имплантации БМА через 7 сут: *a* – ГАГ-позитивные макрофаги (↑). Окраска по Хейлу; *b* – Timp-2^+ -макрофаги (↑). Метод непрямого иммунопероксидазного выявления Timp-2 с докраской гематоксилином, $\times 400$

ОБСУЖДЕНИЕ

Более благополучному течению процесса заживления инфарктированного миокарда опытной группы способствуют многочисленные факторы, одним из которых является реакция макрофагов, индуцированная БМА. Ранее установлено, что при заживлении соединительной ткани с воспалительно-деструктивным процессом и после нанесения дефектов, продукты биодеградации БМА становились хемоаттрактантами моноцитов и макрофагов [2]. Макрофагальные клетки обуславливали эффективность регенерации за счет полноценного фагоцитоза и регулирования пролиферативной фазы воспаления. Они ингибировали фибробластическую активность при помощи стимуляции M1 макрофагов и пролонгирования цитотоксической фазы [9, 10]. В настоящем исследовании при остром инфаркте миокарда нами был получен противоположный результат. В течение 3 сут частицы БМА были резорбированы и в ткани не определялись. Можно предположить, что после резорбции биоматериала БМА-индуцированные макрофаги становились регуляторами межклеточных взаимодействий и стимулировали наступление ранней пролиферативной фазы воспаления, активируя фибробластические клетки.

В контрольной группе ишемически поврежденные кардиомиоциты инициировали каскад воспалительно-клеточных реакций, приведших к прогрессированию воспаления, расширению зоны повреждения и манифестации рубца. Это подтверждается данными других исследователей, которые демонстрировали, что пиковые уровни соответствующего семейства провоспалительных

(CD14^+) макрофагов и (или) моноцитов отрицательно коррелировали с восстановлением функции левого желудочка после острого инфаркта миокарда [11]. Дисрегулированная инфильтрация приводит к расширению инфаркта, расширению левого желудочка и сердечной недостаточности. Моноцитоз усиливает и удлиняет стадию альтерации и экссудации за счет экспрессии спектра воспалительных монокинов ($\text{TNF}\alpha$, IL-1 , IL-6 и т.д.), которые, в свою очередь, индуцируют оксидативный стресс, распространяющийся на близлежащие кардиомиоциты, тем самым расширяют зону некроза. Следовательно, за счет воспаления при ишемических повреждениях миокарда усиливается ремоделирование левого желудочка [12].

Макрофаги известны как полиморфная клеточная популяция, их фенотип определяется сигналами микроокружения. После применения БМА в опытной группе продукты его биодеградации кроме антифиброгенного эффекта [9] создают определенное уникальное микроокружение, которое индуцирует экспрессию TIMP-2 клетками. Это помогает значительно уменьшить воспалительную нагрузку при острой ишемии [13]. Подход к модуляции макрофагов заключается в изменении их окружения. Обнаружено, что фенотипы и функции макрофагов формируются микроокружением органа проживания [14]. Например, трансплантация дифференцированных перитонеальных макрофагов в легочную среду индуцировала перепрограммирование транскрипционного ландшафта этих клеток и приобретение ими новых тканеспецифических функций [11, 12]. Следовательно, БМА при остром ишемическом повреждении миокарда оказывает противос-

палительный эффект и является фактором переключения фенотипа макрофагов с М1 на М2. В то время как разрушающиеся кардиомиоциты в контрольной группе стимулировали каскад воспалительных реакций, в том числе за счет выраженной экспрессии металлопротеиназ ММР-9 [13]. Известно, что участниками регенерационного процесса в миокарде выступают не только эффекторные, фибробластические клетки, но и кардиомиогенные прогениторные клетки. Считается, что источниками стволовых клеток могут быть стволовые ниши, клетки эпикарда, гемопоэтические стромальные стволовые клетки и т.д. [15, 16]. Направление дифференцировки прогениторных стволовых клеток часто мало предсказуемо, и с этим связывают высокую вероятность образования тератом [17]. БМА стимулировали миграцию малодифференцированных клеток $c\text{-kit}^+$. Фагоцитоз макрофагами $c\text{-kit}^+$ -клеток, вероятно, связан с генетически запрограммированным механизмом антитуморогенности. Несмотря на это, уровень прогениторных клеток в опытной группе оставался достаточно высоким, что способствовало более полноценной регенерации миокарда и подавлению развития рубцовой ткани.

Макрофаги являются гетерогенной клеточной популяцией. В условиях применения БМА ранее были зафиксированы макрофаги мезенхимного происхождения, условно названные матриксформирующими [1, 18, 19]. Они обладали фенотипом $Vimentin^+/Хейл^+/CD68^+/PCNA^+$ и секретировали ГАГ, что характерно для фибробластических клеток. Макрофаги имели мезенхимное происхождение. В настоящем исследовании выявлено, что они экспрессируют тканевый ингибитор металлопротеиназ $Timp-2$. Предположительно, данные клетки играют структурно-информативную роль для клеточных коопераций и создают гомеостаз в очаге воспаления. Их наличие связано с синтезом углеводного компонента в зоне регенерации, а $Timp-2$ оказывает гистопротекторный эффект за счет противовоспалительного механизма в миокарде [20], что также может обуславливать начало ранней пролиферативной фазы воспаления и регуляции гомеостаза. Выявление макрофагов данного фенотипа согласуется с наблюдением о том, что сердце взрослого человека содержит популяции макрофагов эмбрионального происхождения, обладающие способностью к восстановлению тканей. Примечательно, что эти семейства хотя и присутствуют в покоящемся взрослом сердце, резидентные макрофаги теряются после травмы сердца у взрослых и вместо этого заменяются воспалительными моноцитарными макрофагами

костномозгового происхождения [14].

Следовательно, БМА в условиях острой ишемии миокарда оказывал гистопротекторный эффект. Различия в количестве, составе и функции макрофагов способствуют различным моделям восстановления и ремоделирования левого желудочка, наблюдаемым в данном эксперименте.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование БМА при экспериментальном инфаркте миокарда способствует значительному уменьшению площади рубца.

Использование аллогенного биоматериала снижает инфильтрацию миокарда макрофагальными клетками.

В процессе восстановления миокарда после ишемического повреждения, макрофаги способны активно фагоцитировать аутогенные стволовые клетки.

В зоне имплантации БМА присутствует популяция ГАГ-позитивных макрофагов.

Использование БМА обеспечивает значительное преобладание численности $c\text{-kit}^+$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Muldashev E.R., Muslimov S.A., Musina L.A., Nigmatullin R.T., Lebedeva A.I., Shangina O.R., Khasanov R.A. The role of macrophages in the tissues regeneration stimulated by the biomaterials. *Cell Tissue Bank*. 2005; 6 (2): 99–107. DOI: 10.1007/S10561-004-5805-2.
2. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М., Щербakov Д.А. Морфологические особенности макрофагов и их цитокинового профиля в регенерации скелетной мышечной ткани при пластике аллогенным губчатым биоматериалом. *Цитокины и воспаление*. 2015; 14 (1): 27–33.
3. Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Лебедева А.И., Муслимов С.А., Попов С.В. Функциональное состояние миокарда после использования аллогенного бесклеточного материала для стимуляции его регенеративных возможностей при экспериментальном инфаркте. *Российский кардиологический журнал*. 2018; 23 (3): 71–75.
4. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Мусина Л.А. Морфологические аспекты регенеративного потенциала ишемически поврежденного миокарда после применения аллогенного биоматериала. *Биомедицина*. 2016; 2: 32–44.
5. Лебедева А.И. Аллогенный губчатый биоматериал – индуктор миосателлитоцитов в поврежденной скелетной мышце. *Успехи современной биологии*. 2016; 136 (3): 276–284.
6. Гомбожапова А.Э., Роговская Ю.В., Ребенкова М.С., Кжышкoвская Ю.Г., Рябов В.В. CD68 и стабилн-1 позитивные макрофаги в постинфарктной регенерации миокарда. *Российский кардиологический журнал*. 2017. 11 (151): 56–61.

7. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2с; 2010: 358.
8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера; 2002: 312.
9. Лебедева А.И. Аллогенный губчатый биоматериал – ингибитор фиброза поврежденной скелетной мышечной ткани. *Российский биотерапевтический журнал*. 2014; 13 (4): 37–44.
10. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Мусина Л.А., Гареев Е.М. Роль резидентных макрофагов в регенерации скелетной мышечной ткани, индуцированной биоматериалом Аллоплант. *Биомедицина*. 2014; 2: 43–50.
11. Tsujioka H., Imanishi T., Ikejima H., Kuroi A., Takarada S., Tanimoto T., Kitabata H., Okochi K., Arita Y., Ishibashi K., Komukai K., Kataiwa H., Nakamura N., Hirata K., Tanaka A., Akasaka T. Impact of heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets on myocardial salvage in patients with primary acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009; 54 (2): 130–138. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.04.021.
12. Panizzi P., Swirski F.K., Figueiredo J.L., Waterman P., Sosnovik D.E., Aikawa E. et al. Impaired infarct healing in atherosclerotic mice with Ly-6C(hi) monocytes. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 55 (1): 1629–1638. DOI: 10.1016/j.jacc.2009.08.089.
13. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М., Попов С.В., Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С. Экспрессия металлопротеиназ и их ингибиторов в ишемизированном миокарде после применения аллогенного биоматериала. *Российский кардиологический журнал*. 2018; 23 (7): 73–79.
14. Lavine K.J., Epelman S., Uchida K., Weber K.J., Nichols C.G., Schilling J.D., Ornitz D.M., Randolph G.J., Mann D.L. Distinct macrophage lineages contribute to disparate patterns of cardiac recovery and remodeling in the neonatal and adult heart. *PNAS*. 2014; 111 (45): 16029–16034. DOI: 10.1073/pnas.1406508111.
15. Beltrami A.P., Barlucchi L., Torella D., Baker M., Limana F., Chimenti S., Kasahara H., Rota M., Musso E., Urbanek K., Leri A., Kajsutra J., Nadal-Ginard B., Anversa P. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003; 114 (6): 763–776. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00687-1.
16. Orlic D. BM stem cells and cardiac repair: where do we stand in 2004? *Cytotherapy*. 2005; 7 (1): 3–15. DOI: 10.1080/14653240510018028.
17. Barisella M., Andreola S., Rosai J. CD117 in soft tissue sarcomas. *Am. J. Clin. Pathol.* 2002; 118 (3): 470–471.
18. Мусина Л.А., Муслимов С.А., Лебедева А.И., Волгарева Е.А. Ультраструктура макрофагов, выявляемых при имплантации аллогенного биоматериала Аллоплант. *Морфология*. 2006; 129 (1): 53–56.
19. Лебедева А.И. Биоматериал Аллоплант при регенерации миомерия рога матки экспериментальных животных – стимулятор макрофагов мезенхимного происхождения. *Биомедицина*. 2016; 2: 45–53.
20. Baker A.B., Edwards D., Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J. Cell Science*. 2002; 115 (19): 3719–3727. DOI: 10.1242/jcs.00063.

Вклад авторов

Лебедева А.И. – сбор и обработка материала, проведение морфологических исследований, написание статьи. Афанасьев С.А. – анализ и интерпретация данных; окончательное утверждение для публикации рукописи. Муслимов С.А., Попов С.В. – разработка концепции и дизайна исследования. Гареев Е.М. – проведение статистической обработки полученных данных. Кондратьева Д.С. – проведение основных этапов эксперимента.

Сведения об авторах

Лебедева Анна Ивановна, д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, отдел морфологии, Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, г. Уфа. ORCID 0000-0002-9170-2600.

Муслимов Сагит Асхатович, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, зав. отделом морфологии, Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, г. Уфа. ORCID 0000-0002-9076-0251.

Гареев Евгений Мусинович, канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория нейрофизиологии, Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, г. Уфа. ORCID 0000-0002-6561-0892.

Афанасьев Сергей Александрович, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0001-6066-3998.

Кондратьева Дина Степановна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-4004-2497.

Попов Сергей Валентинович, д-р мед. наук, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, директор НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-9050-4493.

✉ Лебедева Анна Ивановна, e-mail: Jeol02@mail.ru

Поступила в редакцию 22.02.2019

Подписана в печать 25.12.2019