

АЛЛОГЕННЫЙ БИОМАТЕРИАЛ – ИНГИБИТОР ФИБРОЗА В ИШЕМИЧЕСКИ ПОВРЕЖДЕННОМ МИОКАРДЕ

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

¹ ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия

² Научно-исследовательский институт кардиологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия

Резюме. Инъекционные аллогенные децеллюляризованные биоматериалы разрабатываются как в качестве скаффолдов для доставки клеточных продуктов, так и в виде самостоятельных фармакологических средств, оказывающих воздействие на каскад тканевых реакций в период постишемического ремоделирования миокарда. Продукты биodeградации биоматериалов могут влиять на клеточные процессы и цитокиновую направленность, которая определяет стратегию заживления поврежденной ткани. В данной работе показано влияние биоматериала на экспрессию ключевых фиброгенных клеточных факторов клетками тканевого ложа и определена степень повреждения миокарда при его ишемическом повреждении в эксперименте.

Цель исследования – определение зоны рубцового перерождения миокарда и выявление ключевых фиброгенных факторов (bFGF-1, TGFb1, MMP-9), а также TIMP-2 (антагонист MMP-9) при острой и подострой стадиях инфаркта миокарда в условиях имплантации аллогенного диспергированного биоматериала в эксперименте.

Крысам-самцам линии «Вистар» лигировали коронарную артерию левого желудочка. Все животные были разделены на 3 группы – I опытную (n = 50), II опытную (n = 50), контрольную (n = 50). В I опытной группе лигирование артерии одновременно сопровождали интрамиокардиальным введением суспензии аллогенного диспергированного биоматериала (2 мг), во II опытной группе введение аллогенного диспергированного биоматериала осуществляли спустя 5 суток после коронароокклюзии, в контрольной группе вводили физиологический раствор. Животных выводили из опыта на 3-и, 7-е, 14-е, 30-е, 45-е сутки. Применяли общегистологические (окрашивание гематоксилином и эозином, по Маллори) и иммуногистохимические (MMP-9, TGFb1, bFGF-1, TIMP-2), статистические методы исследования. Проводили подсчет положительно окрашенных клеток и индекс площади рубца.

Адрес для переписки:

Лебедева Анна Ивановна
ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения РФ
450075, Россия, Республика Башкортостан,
г. Уфа, ул. Р. Зорге, 67/1.
Тел.: 8 (3472) 93-42-35.
E-mail: Jeol02@mail.ru

Address for correspondence:

Anna I. Lebedeva
Federal State Budgetary Education Institution
«Bashkir State Medical University»
67/1 R. Zorge St
Ufa
Republic of Bashkortostan
450075 Russian Federation
Phone: +7 (3472) 93-42-35.
E-mail: Jeol02@mail.ru

Образец цитирования:

А.И. Лебедева, Е.М. Гареев, С.А. Афанасьев,
Д.С. Кондратьева, С.А. Муслимов, С.В. Попов
«Аллогенный биоматериал – ингибитор
фиброза в ишемически поврежденном миокарде»
// Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 2.
С. 301-308. doi: 10.15789/1563-0625-ABA-2359

© Лебедева А.И. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.I. Lebedeva, E.M. Gareev, S.A. Afanasiev,
D.S. Kondratyeva, S.A. Muslimov, S.V. Popov “Allogeneic
biomaterial: a fibrosis inhibitor in ischemic myocardial
damage”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2023, Vol. 25, no. 2, pp. 301-308.
doi: 10.15789/1563-0625-ABA-2359

doi: 10.15789/1563-0625-ABA-2359

© Lebedeva A.I. et al., 2023

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-ABA-2359

Выявлено, что при применении аллогенного диспергированного биоматериала наблюдалось пятикратное снижение степени рубцового перерождения в обеих опытных группах при острой и подострой стадиях ишемического повреждения миокарда по сравнению с контрольной группой. Обнаружено значительное снижение уровня экспрессии клетками фиброгенных факторов на протяжении всего эксперимента: MMP-9, TGFb1, bFGF-1 и повышение степени активности ингибитора металлопротеиназ TIMP-2 клетками соединительной ткани.

Децеллюляризованный аллогенный биоматериал служит ингибитором фиброза, способен изменить паракринную регуляцию миокарда и способствует кардиопротекции при ремоделировании миокарда в начальных сроках после ишемического повреждения.

Ключевые слова: аллогенный биоматериал, миокард, ишемия, ингибитор фиброза

ALLOGENEIC BIOMATERIAL: A FIBROSIS INHIBITOR IN ISCHEMIC MYOCARDIAL DAMAGE

Lebedeva A.I.^a, Gareev E.M.^a, Afanasiev S.A.^b, Kondratyeva D.S.^b,
Muslimov S.A.^a, Popov S.V.^b

^a Federal State Budgetary Education Institution «Bashkir State Medical University», Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation

^b Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Centre, Tomsk, Russian Federation

Abstract. Injectable allogeneic decellularized biomaterials are being developed both as scaffolds for delivery of cellular products and as independent pharmacological agents that affect the cascade of tissue reactions during the period of post-ischemic myocardial remodeling. Biomaterial degradation products can affect cellular processes and modulate cytokine effects, thus determining the healing strategy of damaged tissue. In this work, the influence of biomaterial on the expression of key fibrogenic factors by the cells of tissue bed was demonstrated, and the degree of damage to the myocardium during its ischemic damage was experimentally determined. The aim of our study was to determine the area of myocardial scar degeneration and detection of key fibrogenic factors (bFGF-1, TGFb1, MMP-9), as well as TIMP-2 (MMP-9 antagonist) at the acute and subacute stages of myocardial infarction after implantation of allogeneic powder-like biomaterial in an experimental model.

In the course of experiments, the left ventricular coronary artery was ligated in male Wistar rats (experimental group). All animals were divided into 3 groups: experimental group I (n = 50), experimental group II (n = 50), and controls (n = 50). In experimental group I, the artery ligation was simultaneously accompanied by intramyocardial administration of powder-like biomaterial suspension (2 mg). In experimental group II, the allogeneic powder-like biomaterial was administered 5 days after coronary occlusion, and only physiological saline was administered in the control group. The animals were withdrawn from experiment on days +3, +7, +14, +30, and +45. Standard histological assessment (hematoxylin and eosin staining, according to Mallory) and immunohistochemical examination (MMP-9, TGFb1, bFGF-1, TIMP-2) were made, and statistical evaluation was performed. The cells with positive staining were counted, and the scar area index was calculated.

We have found that administration of dispersed allogeneic biomaterial was followed by a five-fold decrease in the degree of scar degeneration in both experimental groups at the acute and subacute stages of ischemic myocardial damage as compared to the control group. A significantly decreased expression of fibrogenic factors (MMP-9, TGFb1, bFGF-1) by the local cells was found, along with increased activity of metalloproteinase inhibitor (TIMP-2) in connective tissue cells.

Decellularized allogeneic powder-like biomaterial serves as a fibrosis inhibitor and promotes cardioprotection during myocardial remodeling at the initial stages after ischemic injury.

The authors do not have a conflicts of interest.

Keywords: biomaterial, allogeneic, myocardium, ischemia, fibrosis inhibitor

Работа выполнена в рамках государственного задания: регистрационный номер НИОКР № 056-00124-21-00.

Введение

Инъекционные аллогенные децеллюляризованные биоматериалы разрабатываются как в качестве скаффолдов для доставки клеточных продуктов, так и в виде самостоятельных фармакологических средств, оказывающих воздействие на каскад тканевых реакций в период постишемического ремоделирования миокарда. Продукты биодеградации биоматериалов могут влиять на такие клеточные процессы, как апоптоз, ангиогенез. Они могут быть использованы для рекрутирования стволовых клеток при репарации [11]. Избыточное отложение внеклеточного матрикса ограничивает нормальную функцию миокарда и возможные регенеративные способности кардиомиоцитов. Разрешение вопроса о стимулировании кардиомиогенного клеточного потенциала заключается в нивелировании фиброза. В наших предыдущих работах показаны возможности аллогенного биоматериала по привлечению и стимулированию прогениторных клеток, которые приобретают черты и характеристики кардиомиогенных [2]. Однако влияние биоматериала на экспрессию фиброгенных клеточных факторов не исследовано. К профиброгенным факторам относится довольно большой спектр цитокинов и ростовых факторов, которые оказывают непосредственное влияние на развитие фибробластического дифферона и определяют стратегию заживления поврежденной ткани.

Целью данного исследования явилось определение зоны рубцового перерождения миокарда и выявление ключевых фиброгенных факторов (bFGF-1, TGFb1, MMP-9), а также TIMP-2 (антагонист MMP-9) при острой и подострой фазах инфаркта миокарда (ИМ) в условиях имплантации аллогенного биоматериала.

Материалы и методы

Исследования проведены на 150 крысах-самцах линии «Вистар» 0,18-0,20 кг, из которых были сформированы две опытные и одна контрольная группы, по 50 особей в каждой. Крысам всех групп моделировали ИМ, накладывая шов «викрил» на верхнюю треть левой коронарной артерии. Крысам I опытной группы сразу после моделировали ИМ, по границе левого желудочка, выполняли по 6 внутримышечных инъекций суспензии децеллюляризованного аллогенного биоматериала (ДБМ). Крысам II опытной группы введение ДБМ выполняли по той же схеме, но через 5 суток после моделирования ИМ при по-

вторной торакотомии. В качестве ДБМ использовали бесклеточный материал, изготовленный из сухожилий крыс и диспергированный до размера частиц 50-80 мкм для свободного прохождения через инъекционную иглу. Суспензию ДБМ в стерильном физиологическом растворе готовили непосредственно перед применением. Во всех случаях, каждая инъекция содержала 2 мг ДБМ и по объему не превышала 10 мкл. Используемая доза и схема введения ДБМ подобраны в предварительных исследованиях [3]. Крысам контрольной группы после ИМ вместо ДБМ проводили инъекции физиологического раствора. Все манипуляции с крысами проводили под общим наркозом (раствор зоветила в дозе 1 мг/кг внутримышечно). После проведенных вмешательств животных помещали в виварий и содержали со свободным доступом к корму и воде. Животных выводили из эксперимента на 3-и, 7-е, 14-е, 30-е, 45-е сутки, используя инсультацию паров эфира. На каждую точку исследования использовали по 10 животных. Исследования выполнялись согласно правилам лабораторной практики в Российской Федерации в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных (Strasbourg, 1986). Сердца животных фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори. Иммуногистохимические исследования проводили с использованием парафиновых срезов толщиной 4-5 мкм, окрашивали на иммуногистостейнере Leica Microsystems Bond™ (Германия). Применяли первичные антитела: MMP-9, TGFb1, bFGF-1, TIMP-2 (1:300) (Santa Cruz Biotechnology, США). Для демаскировки использовали непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия). Подсчет клеток производили в 20 полях зрения каждого образца при увеличении ×400. Исследование и визуализацию препаратов анализировали с использованием светооптического микроскопа Leica DMD 108 (Германия).

Индекс площади рубца (ИПР) сердец крыс измеряли на препаратах с использованием программы ITEM (Olympus) следующим образом: отношение площади рубца к площади стенки левого желудочка умножали на 100%.

Для анализа данных использовали статистические непараметрические (ранговые) методы — однофакторный дисперсионный анализ по Краскелу—Уоллису и сравнение независимых выборок по критерию Манна—Уитни. Для пред-

ставления результатов использовали медиану (Me), квартили ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$) или границы вариации (X_{\min} ÷ X_{\max}).

Результаты

В контрольной группе через 7–14 дней после коронароокклюзии мы наблюдали типичную картину некротически измененного миокарда с признаками колликвационного некроза, окруженного демаркационным клеточным валом, представленным макрофагами, фибробластами, лимфоцитами, нейтрофилами. При этом, васкулярный рисунок ткани был обеднен (рис. 1А, см. 3-ю стр. обложки). Спустя 30–45 суток наряду с сохраняющейся большой клеточной плотностью выявлялись признаки формирования плотного грубоволокнистого рубца с накоплением упорядоченных толстых пучков коллагеновых волокон. В этот период основу клеточного инфильтрата составляли фибробластические клетки: фибробласты, миофибробласты, фиброциты.

В I и во II опытных группах, для 7–14 суток, на фоне колликвационного некроза кардиомиоцитов было характерно выявление частиц ДБМ в окружении макрофагов и малодифференцированных клеток. По мере резорбции биоматериала и некротизированных кардиомиоцитов фагоцитами выявлялась рыхлая волокнистая соединительная ткань с большим количеством гемокapилляров. Также привлекались фибробласты, лимфоциты, нейтрофилы, лаброциты в небольшом количестве (рис. 1Б, В, см. 3-ю стр. обложки). Через 30–45 суток в обеих опытных группах обнаруживались признаки формирования васкуляризированного соединительнотканно-мышечного регенерата.

На 45-е сутки, при выведении из эксперимента, у крыс контрольной группы отмечалось истончение мышечной стенки левого желудочка и формирование аневризмы на фоне развившегося трансмурального некроза в 80% случаев. К этому сроку погибло 2 из 10 особей. Использование ДБМ привело к иным результатам. В I и во II опытной группах формирование выраженных аневризм происходило у 50% и 40% животных соответственно при условии, что случаев гибели животных не зафиксировано. На поперечных срезах сердца, четко идентифицировались границы мышечной и соединительной тканей (рис. 2, см. 3-ю стр. обложки).

Так, в контрольной группе границы вариации ИПР составили 0,43–48,3%, а в I и II опытных 0÷33,8% и 0÷40,9% соответственно. Однако в контрольной группе Me = 26,5% и Q3% > 17,74%, в то время как в I опытной группе Me = 5,34% (Q75% < 18,6%), а во II Me = 5,17% (Q75% < 22,2%). Сравнение по U-критерию Ман-

на–Уитни показало, что в контрольной группе уровень ИПР значимо выше, чем и в I ($Z = 2,17$, $p < 0,04$) и во II ($Z = 2,42$; $p < 0,02$) опытных группах. Между опытными группами различия оказались статистически незначимыми ($Z = 0,37$, $p > 0,70$). Таким образом, медиана распределения значений ИПР в обеих опытных группах оказалась примерно пятикратно ниже, чем в контрольной (рис. 3).

При исследовании bFGF-1⁺ клеток через 3 суток в I опытной группе Me = 44 клетки (38÷55). Через 7 дней их численность значимо ($p < 0,0001$) повышалась. Me = 61 клетка (54÷68). Однако спустя 14 дней резко возрастала межиндивидуальная вариация численности bFGF-1⁺ клеток — Me = 60 клеток (22÷72), но прирост был статистически незначим ($p > 0,46$). Через 30 суток количество bFGF-1⁺ клеток в I группе резко снижалось — Me = 11 клеток (9÷16), а на 45-й день снижалось незначительно (Me = 9 клеток, 4÷16), но статистически значимо ($p < 0,03$). В контрольной группе число bFGF-1⁺ клеток было невелико Me = 10 клеток (5÷15) на 3-й день, Me = 14 клеток (10÷9) на 7-й день. Но через 14–30 дней количество bFGF-1⁺ клеток в контрольной группе резко возрастало — Me = 84 клеток (80÷109) и Me = 101 клеток (67÷104) соответственно. Значимое ($p < 0,0001$) снижение числа bFGF-1⁺ клеток (Me = 64, 54÷96) в данной группе происходило только к 45-м суткам. Т. е. в период 14÷45 суток вариация числа данных клеток в I опытной группе резко снижалась, в то время как в контрольной группе в период 7–30 суток происходил резкий рост их численности и сохранение ее на высоком уровне продолжительное время (рис. 4А, см. 3-ю стр. обложки).

Численность TGFb-1⁺ клеток в I опытной группе значимо зависела от сроков наблюдения ($\chi = 52,1$; $p < 0,0001$). На 3-й день численность TGFb-1⁺ клеток превышала контрольную — Me = 40 клетки (29÷9) против Me = 10 клетки (6÷16). На 7-й день в I опытной группе численность клеток значимо ($p < 0,005$) снижалась (Me = 18, 10÷47 клеток), а в контрольной повышалась (Me = 64, 25÷110 клеток). Через 14-й суток в опытной группе численность таких клеток увеличивалась незначимо (Me = 32, 26÷37 клеток) ($p > 0,07$), а в контрольной значимо возрастала — Me = 98 клеток (82 ÷ 112) ($p < 0,003$). К 45-му дню численность клеток в контрольной группе снизилась (Me = 28, 17 ÷ 32 клеток), а в I опытной группе значимо ($p < 0,0001$) уменьшалась до Me = 5 клеток (1 ÷ 8) (рис. 4Б, см. 3-ю стр. обложки).

Тенденция к увеличению численности MMP-9⁺ клеток и в контрольной, и в I опытной группе в период от 3–14 суток была высоко значи-

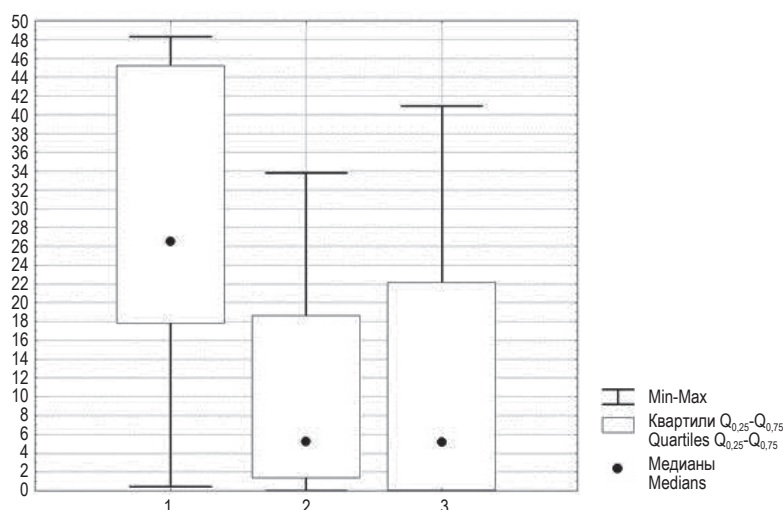


Рисунок 3. Индекс площади рубца в экспериментальных группах через 45 суток

Примечание. Ось абсцисс – группы: 1 – контрольная, 2 – I опытная, 3 – II опытная. Ось ординат – %.

Figure 3. Index of the scar area in the experimental groups after 45 days

Note. The axis of the abscissa group: 1, control; 2, I experimental; 3, II experimental. The ordinate axis is %.

ма ($\chi = 80,2$ и $\chi = 57,7$; $p < 0,0001$). Количество ММР-9⁺ клеток в контрольной группе было значимо ($p < 0,001$) выше, чем в I опытной по всем срокам наблюдения, кроме 3-го ($p > 0,26$) и 7-го ($p > 0,05$) дней, где происходила ишемически индуцированная острая воспалительная реакция. Так, через 14 суток в контрольной группе Me = 13 клеток (12÷18) против Me = 5 клеток (1÷15) в I опытной, а в период 30 и 45 суток Me = 9 клеток (3÷11) и Me = 12 клеток (10÷36) против 3 (0÷8) и 8 (5÷11) клеток соответственно (рис. 4В, см. 3-ю стр. обложки).

Через 3 суток в контрольной группе значения TIMP-2⁺ клеток составило Me = 4 клетки (0-7), через 7 суток 6 клеток (3÷14), спустя 14 суток 13 клеток (1-29), через 30 суток 7 клеток (2-14), а на 45-е сутки Me = 12 (7-21) клеток. В I опытной группе все последовательные значения в период 3-7 суток от Me = 26 клетки (17-50) до Me = 36 клеток (18-54) попарно не различались ($p > 0,06$ – $p > 23$) и держались кратно на высоком уровне. Через 14 суток количество TIMP-2⁺ клеток постепенно и значимо ($p < 0,004$) снижалось, достигнув на 45-е сутки Me = 19 клеток (11-31), что соответствовало затуханию пластических процессов в миокарде. Таким образом, численность TIMP-2⁺ клеток в I опытной группе оставалась выше, чем в контрольной группе на протяжении всего срока наблюдений ($p < 0,0004$) (рис. 4Г, см. 3-ю стр. обложки).

Зависимость численности bFGF-1⁺ клеток от сроков наблюдения для II опытной и для контрольной групп оказалась почти равноценной

($\chi = 30$, $p < 0,0001$ и $\chi = 22$, $p < 0,0001$). Через 7 суток численность bFGF-1⁺ клеток в контрольной группе была статистически значимо выше, чем в опытной – Me = 14 клеток (10÷19) против Me = 5 (2÷5) соответственно. Через 14 суток численность bFGF-1⁺ клеток в контрольной группе оказалась многократно выше, чем в опытной – Me = 90 клеток (80÷119) против Me = 10 клеток (6÷20). К окончанию эксперимента (50 суток) по мере затухания воспалительного процесса и начала стадии заживления численность bFGF-1⁺ клеток в контрольной группе значимо ($p < 0,0002$) снижалась до Me = 64 (Limits 58÷96) клеток, а во II опытной повышалась ($Z = 4,4$, $p < 0,0001$) до Me = 31 (Limits 20÷35), оставаясь существенно ниже, чем в контрольной (рис. 5А).

Численность TIMP-2⁺ клеток во II опытной группе зависела от этапов наблюдения – $\chi = 28,6$, $p < 0,0001$. Через 7 суток в опытной группе Me = 16 клеток (3-9) и была значимо ($p < 0,001$) выше, чем в контрольной группе (Me = 6 клеток, 3 ÷ 14). На 14-й день численность клеток TIMP-2⁺ во II опытной группе резко и значимо ($p < 0,0001$) возрастала (Me = 50 клеток, 19-76, Q3 > 43), а в контрольной рост был менее существенным (Me = 13, 10-29) и общий уровень оставался значимо ($p < 0,0001$) ниже. Спустя 50 суток численность TIMP-2⁺ клеток в опытной группе значимо ($p < 0,004$) снижалась (Me = 34 клеток, 27-52), а в контрольной изменялась незначительно (Me = 10 клеток, 7-21) и незначимо ($p > 0,38$) отличалась от 14-го дня наблюдения

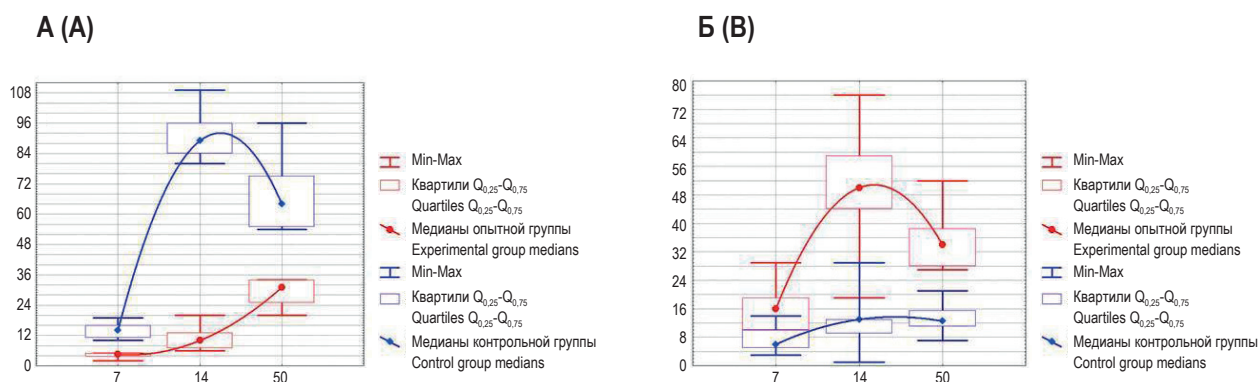


Рисунок 5. Выявление фиброгенных факторов в миокарде в подостром периоде

Примечание. А – bFGF-1⁺ клетки в контрольной группе (синий график) и во II опытной группе (красный график). Б – численность TIMP-2⁺ клеток в контрольной группе (синий график) и во II опытной группе (красный график). По оси абсцисс – дни, по оси ординат – количество.

Figure 5. Detection of fibrogenic factors in the myocardium in the subacute period

Note. (A) bFGF-1⁺ cells in the control group (blue graph) and in the experimental group II (red graph). (B) the number of TIMP-2⁺ cells in the control group (blue graph) and in the experimental group II (red graph). On the abscissa axis – days, on the ordinate axis – quantity.

(рис. 5Б), оставаясь существенно ниже, чем в опытной.

Представленные результаты позволят считать, что использование ДБМ в острой и подострой фазах инфаркта миокарда способствовало ингибированию экспрессии клетками фиброгенных факторов MMP-9, TGFb1, bFGF-1, и увеличению уровня ингибитора металлопротеиназ – TIMP-2.

Обсуждение

Растущее число эмпирических доказательств того, что инъекционные гидрогели могут стабилизировать ИМ, не помогло прояснить основной механизм эффекта. С одной стороны, биоматериал может действовать как пассивный наполнитель для укрепления сердечной стенки и изменения механики. В этом сценарии предполагается, что механические свойства гидрогеля играют ключевую роль в модуляции полезных эффектов [14]. С другой стороны, биоматериал может радикально изменить сердечное ремоделирование, главным образом, за счет биоактивной роли, связанной с составом материала, его биодеградацией *in situ*.

В составе ДБМ преобладают коллаген, протеогликаны, гликозаминогликаны [1]. Известно, что коллаген, являясь средством заместительной терапии, ингибирует фибробластическую деятельность по типу обратной связи и участвует в инактивации фибробластов посредством контактного ингибирования или через цитокин-опосредованные сигнальные пути, как это происходит при инволюции рубца [5]. А такие гликозаминогликаны как гиалуроновая кислота,

хондроитинсульфаты, дерматансульфат и гепарансульфат, высвобождающиеся при биодеградации ДБМ, достоверно ингибируют синтез ДНК в фибробластических клетках нормальных тканей и опухолевых [4]. Следовательно, экзогенный экстраклеточный интерфейс становится регулятором клеточно-стромальных взаимодействий в ткани через влияние компонентов его биодеградации.

Исследование показывает, что в I опытной группе в период 3-7 суток bFGF-1⁺ и TGF-β⁺ клетки значительно превышали значения контрольной, что свидетельствовало о наступлении более ранней пролиферативной стадии воспаления и макрофагально-фибробластического влияния, усиления ангиогенеза, вызванного воздействием продуктов биодеградации ДБМ. Выраженная экспрессия bFGF-1 и TGFb является антагонистом провоспалительного спектра цитокинов и подавляет цепь цитотоксических реакций [8]. В последующем (14-45 суток) экспрессия цитокинов значительно снижалась по мере затухания воспалительных процессов в миокарде и заживления миокарда. А в контрольной группе динамика экспрессии напротив увеличивалась, что соответствовало стремительному накоплению коллагеновых волокон и формированию плотного волокнистого рубца. Во II опытной группе, где имплантация ДБМ происходила в отсроченный период, в зоне с развившимся колликативным некрозом количество FGFb1 были статистически ниже значений контрольной группы. Семейство FGF и TGF-β, с одной стороны являясь мощным индуктором пролиферации и выживания фибробластов, синтеза коллагена, заживления, рубцевания и т. д., может способствовать патоло-

гическому ремоделированию сердца и развитию фиброза [7, 12]. С другой стороны, они являются кардиопротектором, стимулируют неоваскуляризацию. Механическая активность может индуцировать высвобождение FGF2 из сердечных миоцитов, вызывая паракринную гипертрофическую реакцию и сдерживать апоптоз, тем самым повышать сердечную функцию [6, 9].

Роль металлопротеиназ заключается не только в деградации межклеточного матрикса, но и инициации синтеза избыточного коллагена в отдаленный период [10]. В начальные сроки численность MMP-9⁺ клеток в опытных и контрольной группах практически не отличалась в реактивной зоне повреждения. В дальнейшем (14-45 суток) по мере деградации ДБМ, происходили изменения характера клеточной инфильтрации и смена воспалительных фаз с альтерации на пролиферацию, что способствовало изменению динамики экспрессии MMP-9⁺. Численность клеток в контрольной группе значительно превышала количество данных клеток обеих опытных групп. На гомеостаз миокардиального экстрацеллюлярного матрикса влияет баланс металлопротеиназ (MMP-9) и их ингибиторов (TIMP-2), т. к. они играют синергетическую роль в миокарде [15]. TIMP-2 не только коррелирует с ремоделирова-

нием матрикса, но и участвует в подавлении воспаления, оказывая гистопротекторный эффект в поврежденном миокарде, оказывает антиапоптотический эффект, подавляя функцию матриксных металлопротеиназ [13].

Заключение

Обнаружено пятикратное снижение степени рубцового перерождения, по сравнению с контрольной группой, что сопряжено с дефицитом таких факторов как FGF-b⁺, TGF-β⁺, MMP-9⁺ и повышения уровня TIMP-2 как в остром, так и в подостром периодах экспериментального ИМ, индуцированного интрамиокардиальным введением ДБМ. Предстоит проделать значительную работу по выяснению механизмов действия аллогенного биоматериала в диспергированной модификации в качестве инъекционного геля и оптимизации свойств: механики, профилей деградации, клеточных взаимоотношений, степени пролонгирования действия биоматериала, в том числе с использованием моделей крупных животных в клинически значимых сценариях. Интерес к этому терапевтическому подходу высок в связи с возможностью разработки чрескожных методов лечения для ограничения ремоделирования миокарда.

Список литературы / References

1. Лебедева А.И. Регуляция паренхиматозно-стромальных взаимоотношений при коррекции дефектов скелетной мышцы аллогенным биоматериалом // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология, 2014. № 1. С. 51-56. [Lebedeva A.I. Allogeneic biomaterial regulation of parenchyma-stroma relationships in the correction of skeletal muscle tissue. *Eksperimentalnaya i klinicheskaya dermatokosmetologiya = Experimental and Clinical Dermatocosmetology*, 2014, no. 1, pp. 51-56. (In Russ.)]
2. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М., Попов С.В., Афанасьев С.А. Стимуляция аутологичных прогениторных и коммитированных клеток в ишемически поврежденном миокарде // Российский кардиологический журнал, 2018. № 11. С. 123-129. [Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Gareev E.M., Popov S.V., Afanasiev S.A. Stimulation of autologous progenitorial and committed cells in ischemically damaged myocardium. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal = Russian Journal of Cardiology*, 2018, no. 11, pp. 123-129. (In Russ.)]
3. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Гареев Е.М., Попов С.В., Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С. Экспериментальный кардиомиогенез в условиях применения различных доз аллогенного биоматериала // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2018. Т. 165, № 6. С. 753-756. [Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Gareev E.M., Popov S.V., Afanasiev S.A., Kondratieva D.S. Experimental cardiomyogenesis under conditions of administration of different doses of the allogeneic biomaterial. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2018, Vol. 165, no 6, pp. 790-792. (In Russ.)]
4. Мулдашев Э.Р., Уймен Т.Дж., Курчатова Н.Н. Влияние экстракта трансплантата для пластики века серии Alloplant™ на синтез ДНК в культуре клеток // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1994. Т. 1. С. 75-79. [Muldashv E.R., Wyman T J., Kurchatova N.N. Effect of Alloplant™ series graft extract for eyelid plasty on DNA synthesis in cell culture. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 1994, Vol. 1, pp. 75-79. (In Russ.)]
5. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. М.: Медицина, 1981. 312 с. [Sarov V.V., Shekhter A.B. *Connective tissue*. Moscow: Meditsina, 1981. 312 p.]
6. Clarke M.S., Caldwell R.W., Chiao H., Miyake K., McNeil P.L. Contraction-induced cell wounding and release of fibroblast growth factor in heart. *Circ. Res.*, 1995, Vol. 76, no. 6, pp. 927-934.
7. Faul C. Cardiac actions of fibroblast growth factor 23. *Bone*, 2017, Vol. 100, pp. 69-79.

8. Joki Y., Ohashi K., Yuasa D., Shibata R., Ito M., Matsuo K., Kambara T., Uemura Y., Hayakawa S., Hiramatsu-Ito M., Kanemura N., Ogawa H., Daida H., Murohara T., Ouchi N. FGF21 attenuates pathological myocardial remodeling following myocardial infarction through the adiponectin-dependent mechanism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015, Vol. 459, no. 1, pp. 124-130.
9. Kaye D., Pimental D., Prasad S., Mäki T., Berger H.J., McNeil P.L., Smith T.W., Kelly R.A. Role of transiently altered sarcolemmal membrane permeability and basic fibroblast growth factor release in the hypertrophic response of adult rat ventricular myocytes to increased mechanical activity *in vitro*. *J. Clin. Invest.*, 1996, Vol. 97, no. 2, pp. 281-291.
10. LeBert D.C., Squirrell J.M., Rindy J., Broadbridge E., Lui Y., Zakrzewska A., Eliceiri K.W., Meijer A.H., Huttenlocher A. Matrix metalloproteinase 9 modulates collagen matrices and wound repair. *Development*, 2015, Vol. 142, no. 12, pp. 2136-2146.
11. Liao H., Zhou G.-Q. Development and progress of engineering of skeletal muscle tissue. *Tissue Eng. Part B. Rev.*, 2009, Vol. 15, no. 3, pp. 319-331.
12. Morikawa M., Derynck R., Miyazono K. TGF- β and the TGF- β family: Context-dependent roles in cell and tissue physiology. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2016, Vol. 8, no. 5, a021873. doi: 10.1101/cshperspect.a021873.
13. Peterson J.T., Hallak H., Johnson L., Li H., O'Brien P.M., Sliskovic D.R., Bocan T.M., Coker M.L., Etoh T., Spinale F.G. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates left ventricular remodeling and dysfunction in a rat model of progressive heart failure. *Circulation*, 2001, Vol. 103, no. 18, pp. 2303-2309.
14. Wall S.T., Yeh C.C., Tu R.Y.K., Mann M.J., Healy K.E. Biomimetic matrices for myocardial stabilization and stem cell transplantation. *J. Biomed. Mater. Res. A.*, 2010, Vol. 95, no. 4, pp. 1055-1066.
15. Ziora D., Dworniczak S., Kozielski J. Induced sputum metalloproteinases and their inhibitors in relation to exhaled nitrogen oxide and sputum nitric oxides and other inflammatory cytokines in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2008, Vol. 59, Suppl. 6, pp. 809-817.

Авторы:

Лебедева А.И. — д.б.н., старший научный сотрудник отдела морфологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия

Гареев Е.М. — к.б.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия

Афанасьев С.А. — д.м.н., заведующий лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия

Кондратьева Д.С. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия

Муслимов С.А. — д.м.н., ведущий научный сотрудник, заведующий отделом морфологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия

Попов С.В. — академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, директор Научно-исследовательского института кардиологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Россия

Authors:

Lebedeva A.I., PhD, MD (Biology), Senior Research Associate, Department of Morphology, Federal State Budgetary Education Institution «Bashkir State Medical University», Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation

Gareev E.M., PhD (Biology), Associate Professor, Senior Research Associate, Laboratory of Neurophysiology, Federal State Budgetary Education Institution «Bashkir State Medical University», Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation

Afanasyev S.A., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Molecular Cell Pathology and Gene Diagnostics, Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Centre, Tomsk, Russian Federation

Kondratyeva D.S., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Molecular Cell Pathology and Gene Diagnostics, Research Institute of Cardiology, Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Centre, Tomsk, Russian Federation

Muslimov S.A., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Head, Department of Morphology, Federal State Budgetary Education Institution «Bashkir State Medical University», Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation

Popov S.V., Full Member, Russian Academy of Sciences, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Director, Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Centre, Tomsk, Russian Federation