

## Морфологические аспекты регенеративного потенциала ишемически поврежденного миокарда после применения аллогенного биоматериала

А.И. Лебедева, С.А. Муслимов, Л.А. Мусина

ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России, Уфа

Контактная информация: к.б.н. Лебедева Анна Ивановна, Jeol02@mail.ru

---

Цель работы – определение основных механизмов регенерации ишемически поврежденного миокарда после использования аллогенного биоматериала. Кроликам осуществляли перевязку передней нисходящей ветви левой коронарной артерии. Через 5 суток интрамиокардиально в зону ишемии вводили аллогенный биоматериал, в результате чего формировался соединительнотканно-мышечный регенерат с преобладанием мышечной ткани. Выявлено, что продукты биодеградации биоматериала подавляют профиброгенную активность клеток, стимулируют ангиогенез и регенеративные возможности миокарда. Сердечные миопрогениторные клетки дифференцировались в зрелые кардиомиоциты.

**Ключевые слова:** аллогенный биоматериал, ишемизированный миокард, кардиомиоциты, регенерация.

---

### Введение

В настоящее время нет единого мнения о регенеративной способности миокарда. Одни исследователи признают возможность репарации миокарда за счет наличия стволовых клеток с возможностью их кардиомиогенной дифференциации [10, 16, 20], другие авторы считают, что миокард не содержит регенеративного пула и не способен к адекватному восстановлению после повреждения во взрослом организме, а кардиомиоциты расцениваются как терминально дифференцированные элементы [1, 7, 11].

Исходя из положения, что кардиомиоцитарный резерв сердца существенно ограничен и не может покрыть зону обширных повреждений миокарда, используют ряд методов, из которых наиболее разработанным считается органная трансплан-

тация. Применение данной манипуляции связано с риском иммунного отторжения органа, большим листом ожидания, ограничивается морально-этическими, религиозными, законодательными и др. аспектами. Менее радикальными являются методы клеточной терапии, кардиомиопластика стволовыми клетками различного происхождения: фетальными клетками, клетками пуповинной крови, скелетными миоцитами и т.д. [1]. Однако восполнение кардиомиоцитарного пула не может служить полноценным методом восстановления миокарда, т.к. не решается проблема ремоделирования постинфарктного фиброза. Как правило, формированию рубца в мышечной ткани способствует стремительное накопление стромальных элементов и низкая скорость или отсутствие репликации мышечных клеток [7]. В этом аспекте

перспективным представляется применение диспергированного аллогенного биоматериала. Продукты биodeградации биоматериала ингибируют профиброгенную клеточную активность и снижают скорость коллагенообразования, тем самым стимулируют клеточные элементы тканевого ложа [3, 22].

**Цель** исследования – определение основных механизмов регенерации ишемически поврежденного миокарда с помощью биоматериала Аллоплант (БМА).

### **Материалы и методы**

Экспериментальные исследования с применением БМА были проведены на 48-ми серых кроликах популяции нелинейных конвенциональных животных обоего пола массой 2,5-3 кг. Животные были получены из крестьянско-фермерского хозяйства д. Салзегутово Кармаскалинского р-на «ИП Лобов В.М.» (ветеринарное свидетельство № 56-31 2050).

Исследования выполнялись согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации, в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS 123), Strasburg, 1986), согласно утвержденному письменному протоколу, в соответствии со стандартными операционными процедурами организации (СОП), а также с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [12].

Животные содержались в стационарных клетках индивидуально. В качестве

корма использован стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для кроликов ПЗК-92. Кормление животных осуществлялось по нормативам в соответствии с видом животных. Водопроводную очищенную воду всем животным давали без ограничений в поилках. Протокол исследования был рассмотрен и одобрен экспертным советом по биомедицинской этике ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ.

Биоматериал Аллоплант разработан в ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России (руководитель – проф. Э.Р. Мулдашев). Указанный биоматериал изготавливается согласно ТУ 42-2-537-87, сертифицирован и разрешен к применению в клинической практике приказом МЗ СССР № 87 901-87 от 22.07.1987 г. Он представляет собой диспергированный трансплантат, приготовленный в данном случае из сухожилий кроликов и обработанный по технологии Аллоплант®.

Все животные были разделены на две группы: контрольную (18 кроликов) и опытную (30 кроликов). С целью создания острой ишемии в миокарде левого желудочка под внутримышечным наркозом (0,1% раствор кетамина) осуществляли перевязку средней трети передней нисходящей ветви левой коронарной артерии. Через 5 суток под аналогичным наркозом интрамиокардиально в зону ишемии вводили суспензию БМА в физиологическом растворе. Животных выводили из опыта путем инсуффляции летальной дозы паров фторотана на 7, 14, 21, 30, 90 и 180 сутки. В контрольной группе на каждую точку исследования использовали по 3 животных, в опытной – по 5 животных.

Кусочки ткани фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону. Для иммуногистохимических исследований парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивали с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond™ (Германия). В качестве первичных антител применяли: Thy1, TGF-β1 и PCNA 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 первичных антител. Площадь окрашивания и суммарную площадь просветов кровеносных сосудов производили в 20-ти 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 и микроскопа AxioImager Z1, оснащенного фотонасадкой ProgRes C3 и программой анализа изображений Axiovision (C. Zeiss, Германия).

Для электронно-микроскопического исследования вырезали кусочки тканей размером 1-2 мм<sup>3</sup> и фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, приготовленного на какодилатном буфере (рН 7,2-7,4) с дофиксацией в 1%

растворе OsO<sub>4</sub> на том же буфере. Материал обезвоживали 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% растворе безводной соды. На данных срезах выбирали участки для электронно-микроскопического исследования. Ультратонкие срезы контрастировали 2% водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу и изучали в трансмиссионном микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония).

Для обработки числовых данных использовали параметрический дисперсионный анализ по Р. Фишеру при помощи критерия Fd и непараметрический (ранговый) дисперсионный анализ по Краскелу-Уоллесу с использованием для сравнения отдельных выборок рангового U-критерия.

### **Результаты и их обсуждение**

В контрольной группе в зоне ишемии миокарда происходила гибель кардиомиоцитов и замещение погибших клеток плотной аваскулярной волокнистой соединительной тканью – рубцом (рис. 1).

После введения БМА спустя 7-14 суток в очаге инфаркта обнаруживались начальные признаки формирования грануляционной ткани с присутствием макрофагов и фибробластов, частицы биоматериала подвергались биодеградации и постепенной резорбции. Краевые зоны грануляционной ткани замещались новообразованной васкуляризированной рыхлой соединитель-

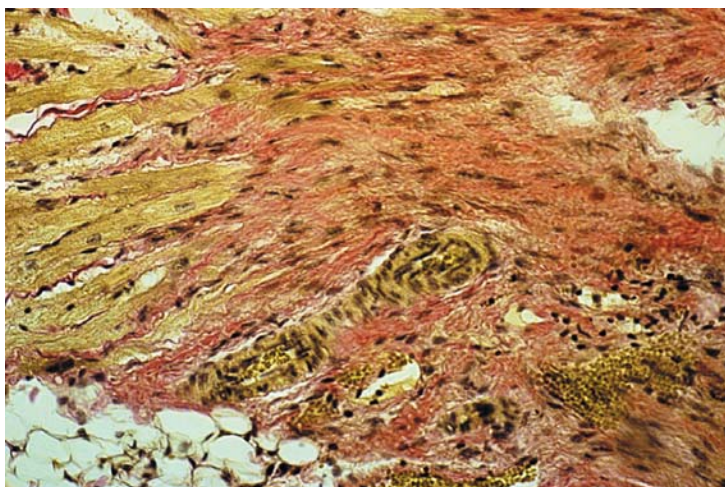


Рис. 1. Заживление миокарда кролика через 90 суток после перевязки коронарной артерии. Гипертрофия мышечных волокон вокруг рубца. Окраска по методу Ван Гизона. Ув. х400.

ной тканью. Через 21-30 суток количество частиц биоматериала значительно уменьшалось. Наряду с макрофагально-фибробластической инфильтрацией в реактивной зоне наблюдались малодифференцированные клетки Thy1,

причем локализовались они не только в регенерате, но и преимущественно возле кровеносных сосудов. В связи с этим можно предположить, что они мигрировали гематогенным путем (рис. 2). Известно, что антиген Thy1

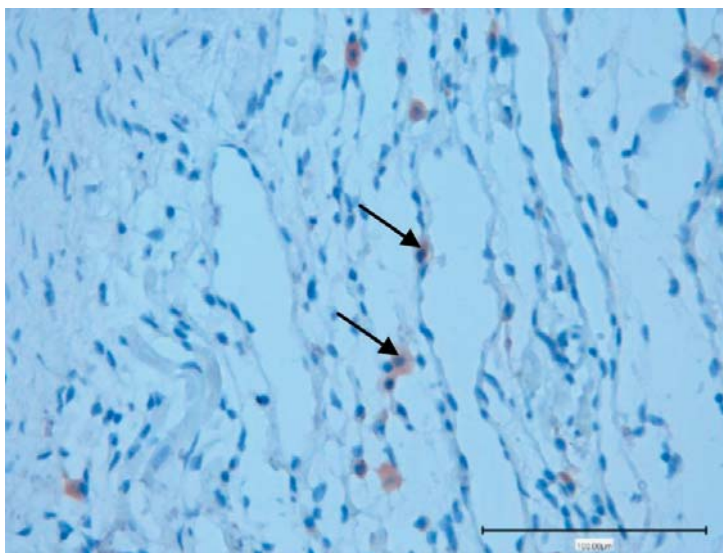


Рис. 2. Малодифференцированные клетки Thy1 (↑) в ишемически поврежденном миокарде через 14 суток после введения БМА. Непрямой иммунопероксидазный метод выявления Thy1<sup>+</sup> клеток с докраской гематоксилином. Ув. х400.

/ CD90 экспрессируется не только на поверхности лимфоидных клеток, но и является маркером костномозговых мезенхимных стволовых клеток [18]. Также этот белок выявлен на клетках кардиосфер наряду с *c-kit* клетками, являющимися прогениторными клетками кардиомиоцитов. Наличие *Thy1* связывают с ангиогенезом в ишемически поврежденной ткани миокарда, источником мезенхимных стволовых клеток и кардиомиогенных клеток, способных дифференцироваться в зрелые клеточные формы [17, 19].

Известно, что продукты биодegradации БМА являются хемоаттрактантами негематопoэтических предшественников мезенхимных клеток CD45-/CD90+, что было установлено с помощью проточной цитофлюориметрии [2]. После применения БМА возле кровеносных сосудов выявлялись малодифференцированные клетки, которые гипотетически в условиях миокардиального окружения могут преобразовываться в зрелые кардиомиоциты. Миокард содержит стволовые клетки *c-kit*<sup>+</sup>, обнаруживаемые при патологических состояниях, которые обладают хемотаксисом к очагу повреждения и бывают костномозгового происхождения или резидентными [16, 25].

Анализ ультраструктуры клеток показал гетерогенность клеточных популяций в регенерате. Выявлялись клетки с признаками различной дифференциации кардиомиоцитов: от молодой малодифференцированной клетки до юного кардиомиоцита. Малодифференцированные клетки не имели какой-либо клеточной специализации. Ядра были округлой формы. В ядре выявлялся преимущественно

эухроматин. Гетерохроматин конденсировался в небольшом количестве в виде узкой полоски вдоль ядерной мембраны. Ядрышковый аппарат был не развит. Ядерно-цитоплазматическое отношение смещалось в сторону ядра. В тонком ободке цитоплазмы обнаруживались единичные митохондрии, разрозненные рибосомы, короткие каналы гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР), овальные митохондрии с параллельными кристами в просветленном матриксе (рис. 3А). Также выявлялись клетки более крупных размеров с расширенным ободком цитоплазмы, где главным морфологическим признаком являлось наличие единичных разрозненных толстых миофиламентов в присутствии электронноплотных гранул – зёрен гликогена и скоплений рибосом. На активацию белоксинтетической деятельности указывало строение ядра. Оно было крупного размера, содержало преимущественно эухроматин, гетерохроматин в виде тонкой полосы располагался маргинально. В эндоплазме наблюдались многочисленные крупные митохондрии округлой формы с четкими параллельными кристами и плотным затемненным матриксом. Перинуклеарное пространство было заполнено рибосомами и зернами гликогена. Причем гранулярный компонент преобладал над фибриллярным. Также определялись расширенные короткие каналы ГЭР, комплекс Гольджи (рис. 3Б). Можно предположить, что данные клетки находились в кардиомиобластической стадии дифференциации. Со временем клетки увеличивались в размерах. В ядре обнаруживался в основном эухроматин,

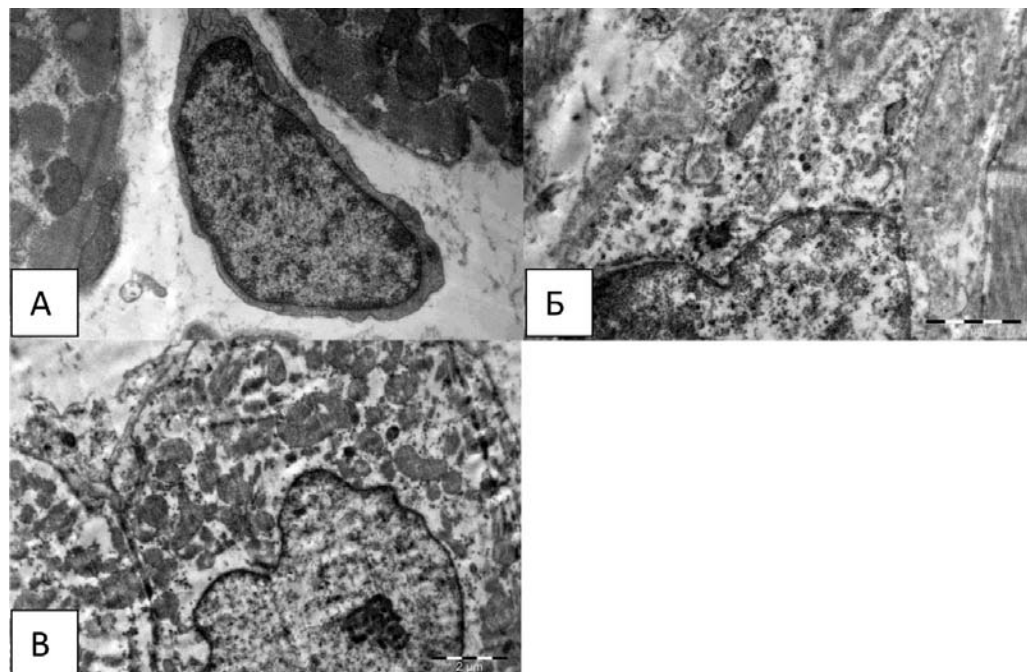


Рис. 3. Кардиомиоциты различной степени дифференцировки через 21 сутки после введения БМА. А – малодифференцированная клетка, ув.  $\times 12000$ ; Б – миобластическая клетка, ув.  $\times 12000$ ; В – контакт юных кардиомиоцитов, ув.  $\times 8000$ . Электронограммы.

определялось крупное ядрышко. В цитоплазме накапливались митохондрии, которые были хаотично распределены. Возле них обнаруживались короткие пучки миофиламентов без Z-линии, на концах которых обнаруживались скопления зёрен гликогена. После накопления определенной критической массы миофибрилл в цитоплазме выявлялись признаки слияния кардиомиоцитов с формированием вставочных дисков между собой и образованием синцития (рис. 3В). Наличие межклеточных контактов между юными кардиомиоцитами является следствием терминальной кардиомиогенной функционально-морфологической дифференциации [15].

В реактивной зоне в непосредственной близости с культей поврежденного мышечного волокна выявлялись скопления малодифференцированных миобластических клеток в виде однорядных цепочек, что напоминало «мышечные почки». Ядра данных клеток содержали эухроматин, в них хорошо определялся ядрышковый аппарат, что указывало на активную белоксинтетическую деятельность. В объемной цитоплазме прослеживались фибриллярные структуры. Интерстициальное пространство было заполнено гелеобразным аморфным веществом – вероятно, гликозаминогликанами, коллагеновых волокон обнаружено не было (рис. 4).

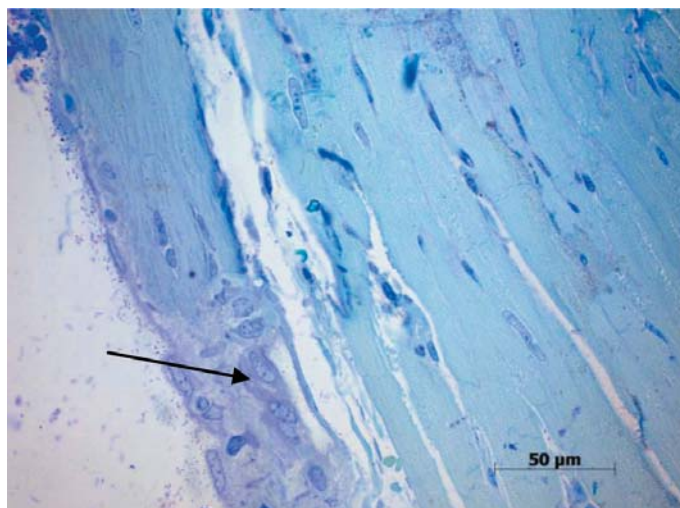


Рис. 4. «Мышечная почка» на культуре сердечного мышечного волокна (↑) через 30 суток после введения БМА. Полутонкий препарат. Окраска толуидиновым синим. Ув. x1000.

Наряду с малодифференцированными клетками нами обнаружено, что небольшие размером зрелые кардиомиоциты обладали пролиферативной активностью. Причем ядра у клеток располагались эксцентрично, рядом друг с другом в непосредственной близости – в постмитотическом состоянии (позд-

няя телофаза) и образовывали «почки роста» (рис. 5). В работе [8] также отмечали наличие подобных клеток, получивших название «малых» резидентных кардиомиоцитов. В последние годы появляется все больше сведений о том, что кардиомиоциты обладают пролиферативным потенциалом, и ими являют-

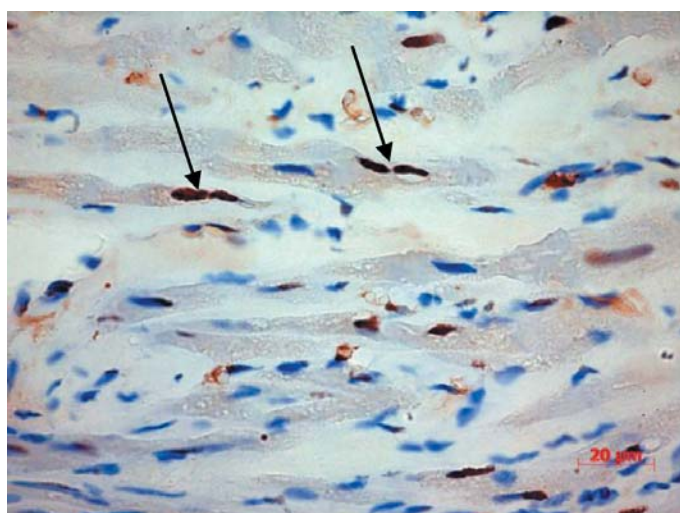


Рис. 5. Пролиферация ядер кардиомиоцитов (↑) через 30 суток после введения БМА. Непрямой иммунопероксидазный метод выявления PCNA<sup>+</sup> клеток с докраской гематоксилином. Ув. x400.

ся, как правило, «малые» одноядерные кардиомиоциты [4, 8, 9]. Найденные кардиомиоциты PCNA-позитивны, т.е. способны к пролиферации, и существует вероятность их участия в пополнении пула кардиомиоцитов.

В зрелых кардиомиоцитах обнаруживались признаки внутриклеточной регенерации, выражающиеся в гиперплазии цитоплазматических органелл. Вдоль сарколеммы наблюдались наплыва саркоплазмы – зоны с просветленной

цитоплазмой, заполненной рибосомами и гранулами гликогена. В ней определялись короткие фрагменты сократительных структур различной степени зрелости. Между пучками были расположены многочисленные митохондрии (рис. 6).

Спустя 90 суток в ишемизированной зоне миокарда формировался соединительнотканно-мышечный регенерат с преобладанием мышечной ткани, что значительно улучшало морфологическую картину (рис. 7).

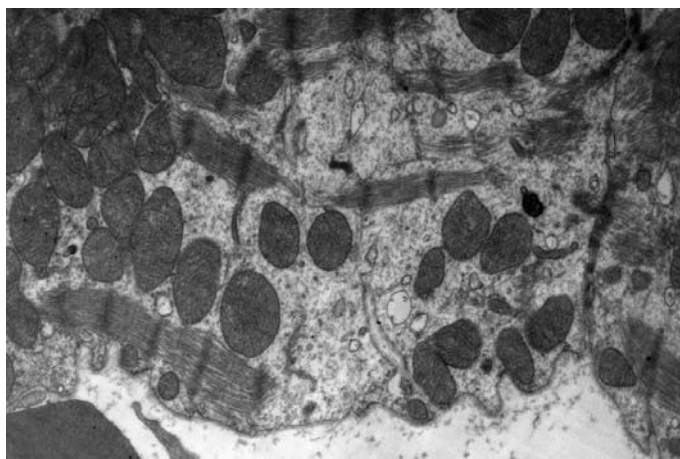


Рис. 6. Гипертрофия зрелых кардиомиоцитов через 30 суток после введения БМА. Электронограмма. Ув. x15000.

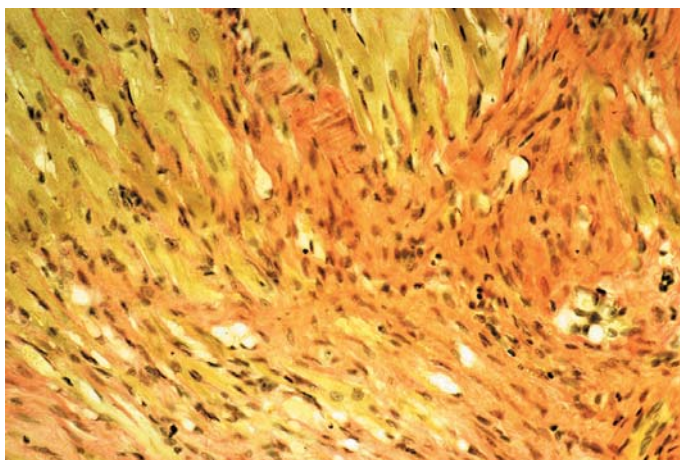


Рис. 7. Соединительнотканно-мышечный регенерат с преобладанием мышечных волокон через 90 суток после введения БМА. Окраска по методу Ван Гизона. Ув. x400.



Неравнозначный механизм заживления скелетной мышечной ткани в контрольной и опытной группах может быть обусловлен определенной цитокиновой нагрузкой клеток гистиона. Цитокин TGF-β1 оказывает противовоспалительный эффект и является промотором фиброза и иммуносупрессором, блокирует активацию лимфоцитов и макрофагов. Повышенное его содержание приводит к дисрегенерации и атрофии в мышечной ткани [26]. При исследовании экспрессии в тканях TGF-β1 выявлено, что в начальные сроки наблюдения (3-е суток) площадь окрашивания в контроле составляла  $16 \pm 1,15$  мкм<sup>2</sup>, что почти в 8 раз больше, чем в опытной группе ( $2,10 \pm 0,57$ ). В период 7-14 суток в контроле выявлялось нарастание экспрессии цитокина с  $18,00 \pm 0,67$  мкм<sup>2</sup> до  $33,00 \pm 1,05$  мкм<sup>2</sup>. После чего в интервале с 21 до 60 су-

ток его количество постепенно снижалось ( $30,90 \pm 1,20$  мкм<sup>2</sup>;  $26,00 \pm 1,63$  мкм<sup>2</sup>;  $16,20 \pm 0,92$  мкм<sup>2</sup> соответственно). В опытной группе уровень экспрессии через 7 суток составлял  $2,90 \pm 0,74$  мкм<sup>2</sup>, через 14 суток –  $12,10 \pm 0,99$  мкм<sup>2</sup>, через 21 сутки –  $14,10 \pm 0,74$  мкм<sup>2</sup>. В период 30-60 суток экспрессия TGF-β1 резко снижалась до  $5,70 \pm 1,16$  мкм<sup>2</sup> –  $3,00 \pm 0,94$  мкм<sup>2</sup> соответственно. Данные статистически значимы ( $p < 0,001$ ). Был применен двухфакторный дисперсионный анализ, позволяющий выявить взаимодействие факторов – сравнить две группы (опытная и контрольная) во времени. Коэффициент влияния фактора (КВФ) составил 70%, коэффициент Фишера (F) – 51. Так, в контрольной группе экспрессия TGF-β1 на всех сроках наблюдения являлась высокой по сравнению с опытной группой (рис. 8),

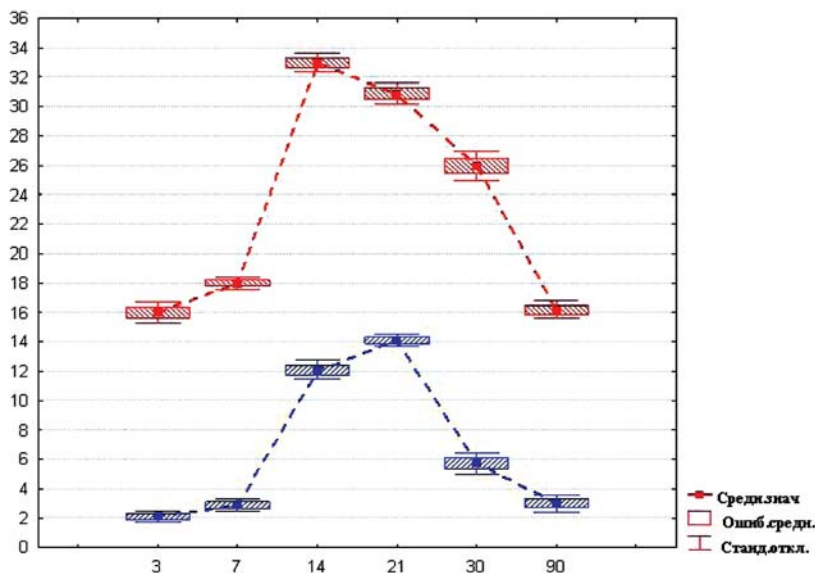


Рис. 8. Динамика экспрессии TGF-β1 в миокарде животных опытной группы (синий цвет) и контрольной группы (красный цвет). По оси абсцисс – сутки. По оси ординат – площадь (мкм<sup>2</sup>).

Фактор группирования – опыт-контроль. КВФ = 97%; ККК = 0,99; F = 8054;  $p < 0,001$ .

Фактор времени. КВФ = 97%; ККК = 0,98; F = 767;  $p < 0,001$ .

КВФ – коэффициент влияния фактора, ККК – коэффициент канонической корреляции, F – коэффициент Фишера, p – достоверность.

что стимулировало избыточное коллагенообразование и формирование рубца.

Низкий уровень TGF- $\beta$ 1 в опытной группе определяет умеренное, а не избыточное коллагенообразование, что дает возможность роста и развития кардиомиоцитов. Ингибитором фиброза в данном случае выступают продукты резорбции БМА. Известно, что экстрагируемые из биоматериала Аллоплант протеогликаны тормозят пролиферацию клеток, обладающих высокой митотической активностью, в т.ч. фибробластов [5]. В составе биоматериала превалируют коллаген, протеогликаны, гликозаминогликаны (гиалуроновая кислота, кератан- и дерматансульфат) [14]. Коллаген, являясь средством заместительной терапии в поврежденной ткани, ингибирует фибробластическую деятельность по типу обратной связи и участвует в торможении пролиферативной и коллагенсинтетической функции фибробластов [13]. Гликозаминогликаны, к числу которых относится и гиалуроновая кислота, регулируют в тканях ионнообменную активность, репаративные, механические свойства, процессы роста и дифференцирования клеток, участвуют в постнатальном гистогенезе [13]. Экзогенно введенная гиалуроновая кислота препятствует рубцеванию за счет супрессии факторов фиброза в клетках и снижения адгезии фибробластических клеток в ране после хирургического вмешательства [21]. Установлено, что высокомолекулярные гиалуронановые полисахариды, как молекулы пространственного наполнения и гидратации тканей, обладают ангиогенными, противовоспалительными и иммуносупрессивными свойствами [24].

Полноценность регенерата определяется не только количеством коллаге-

на, определяющего выраженность фиброза, но и степень васкуляризации. При морфометрическом анализе суммарной площади просветов капилляров (СППК) выявлено, что подавляющим оказалось влияние фактора времени:  $\eta^2=49\%$ ;  $F=23,5$ ;  $p<0,0001$ . Влияние фактора «наличия/отсутствия» БМА и совместное действие обоих факторов оказалось мало:  $\eta^2=4\%$ ;  $F=9,6$ ;  $p<0,003$  и  $\eta^2=2\%$ ;  $F=0,97$ ;  $p>0,43$  соответственно. Паттерн последовательных изменений СППК миокарда практически идентичен. В начальный период наблюдений (3-е суток) средняя СППК миокарда в опыте и контроле очень близка ( $99,3\pm 57$   $\mu\text{м}^2$  и  $82,7\pm 44$   $\mu\text{м}^2$  соответственно) и значимо не различалась ( $p>0,43$ ). На 7-й день – и в опыте, и в контроле – среднее значение резко возрастало, достигая, соответственно, уровня  $401,7\pm 274,7$   $\mu\text{м}^2$  и  $267,8\pm 132,8$   $\mu\text{м}^2$ . Далее – и в опыте, и в контроле – начиналась фаза спада СППК миокарда, с 30-го дня от начала эксперимента – стабилизация средних значений этого показателя на уровне  $94\div 99$   $\mu\text{м}^2$  в опыте и  $56\div 57$   $\mu\text{м}^2$  в контроле. В этот период (14-90 суток) различия средних значений в опыте и контроле сохранялось на статистически значимом уровне ( $p<0,02\div 0,002$ ). Внутригрупповая вариабельность составляла 50% и более (рис. 9).

Неоангиогенез осуществлялся за счет иммиграции эндотелиальных клеток из сосудистой стенки в интерстиций миокарда, что также служит признаком формирования сосудистых почек при ангиогенезе [13]. Эндотелиоциты, в свою очередь, мигрировали в толщу поврежденной ткани, где начинали формироваться новообразованные капилляры (рис. 10).

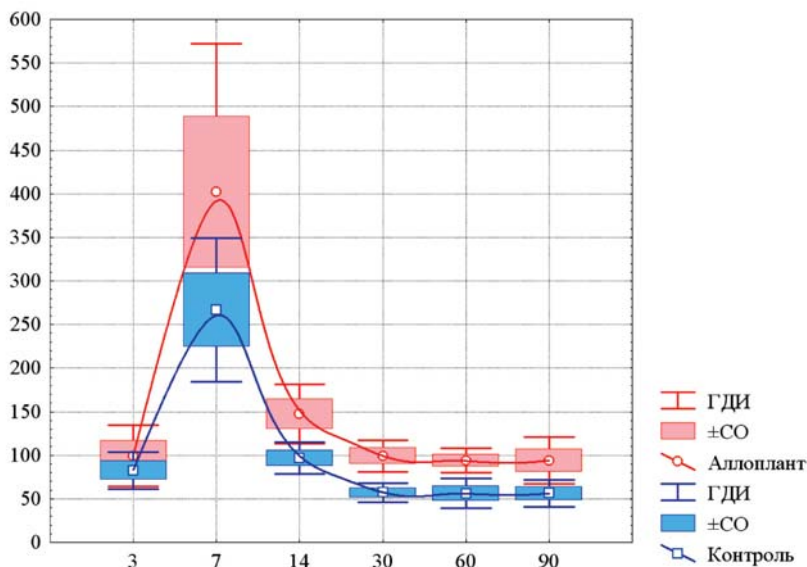


Рис. 9. Среднее значение СППК миокарда в опытной группе (красный цвет) и в контрольной (синий цвет). По оси абсцисс – сроки наблюдения в днях. По оси ординат – среднее число клеток. ГДИ – границы доверительного интервала для средних,  $\pm CO$  – стандартная ошибка среднего значения. В опытной группе  $\eta^2=50\%$ ,  $F=10,5$ ,  $p<<0,0001$ ; в контрольной –  $\eta^2=64\%$ ,  $F=18,6$ ,  $p<<0,0001$ .

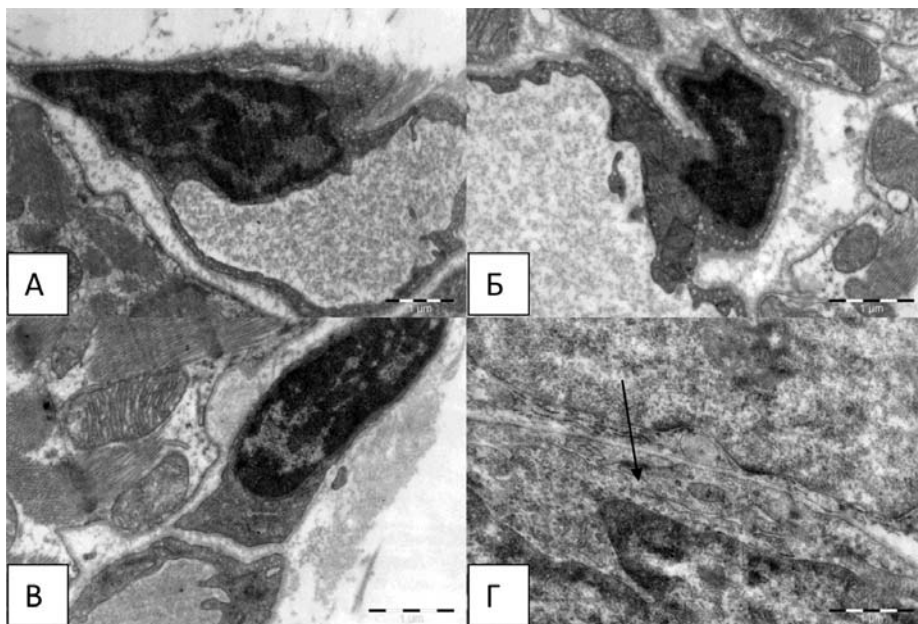


Рис. 10. Неоангиогенез в ишемически поврежденном миокарде через 21 сутки после введения БМА. Электронограммы. А, Б, В – стадии иммиграции эндотелиоцита из сосудистой стенки в интерстиций, ув.  $\times 12000$ ; Г – канализация цитоплазмы эндотелиоцита ( $\uparrow$ ), формирование капилляра, ув.  $\times 17000$ .

В контрольной группе на месте некротически измененных кардиомиоцитов разрасталась аваскулярная плотная соединительная ткань – рубец. В опытной группе продукты резорбции аллогенного биоматериала способствовали улучшению структуры миокарда в процессе постишемического восстановления. Происходило формирование соединительнотканно-мышечного регенерата, где стромальный компонент состоял из рыхлой соединительной ткани, а в межволоконные пространства мигрировали и прорастали мышечные клетки [6].

Оксигенация ишемически поврежденной ткани миокарда осуществляется за счет адекватного неоангиогенеза. Нами выявлено, что уровень васкуляризации регенерата после применения БМА превосходит контрольные значения. Неоангиогенез стал возможен за счет гиперплазии самих эндотелиоцитов, их миграции в интерстициальное пространство и формирования почк роста. Вероятно, это связано с ангиогенной стимуляцией гликозаминогликанами [23]. Редукция же гемокапилляров в контрольной группе животных может быть вызвана стремительным и избыточным накоплением коллагена.

### **Заключение**

Таким образом, после интрамиокардиального применения аллогенного биоматериала нами обнаружено улучшение структуры ишемически поврежденного миокарда за счет комплекса факторов: стимуляция ангиогенеза, миграция стволовых клеток из кровеносного русла, дифференциация кардиомиогенных клеток, наличие «малых» резидентных пролиферативно активных кардиомиоцитов, внутриклеточная регенерация

зрелых кардиомиоцитов – гипертрофия и кариокинез кардиомиоцитов. Возможное участие перечисленных клеток в ремоделировании миокарда осуществляется на фоне ингибирования фиброза, которое реализуется за счет действия продуктов резорбции аллогенного биоматериала.

### **Список литературы**

1. *Деев Р.В.* Отечественный опыт изучения эффективности метода «клеточной кардиомиопластики» в эксперименте // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2005. № 1. Т. 1. С. 17-18.
2. *Курчатова Н.Н., Сибиряк С.В., Хасанов Р.А. и др.* Миграция мезенхимальных стволовых клеток в биоматериалы ALLOPLANT: предварительные данные // Иммунология Урала. 2005. № 1. Т. 4. С. 17-18.
3. *Лебедева А.И.* Аллогенный губчатый биоматериал – ингибитор фиброза поврежденной скелетной мышечной ткани // Российский биотерапевтический журнал. 2014. № 4. Т. 13. С. 37-44.
4. *Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Клиникова М.Г. и др.* Пролиферативная активность кардиомиоцитов при хронической гиперхолестеринемии // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2013. № 4. С. 231-237.
5. *Мулдашев Э.Р., Уилен Т.Дж., Курчатова Н.Н. и др.* Влияние экстракта трансплантата для пластики века серии Alloplant на синтез ДНК в культуре клеток // Бюлл. эксп. биол. и мед. 1994. № 1. С. 75-79.
6. *Мусина Л.А., Андриевских С.И., Муслимов С.А. и др.* Морфологические изменения, выявленные после введения аллогенного биоматериала в ишемически поврежденный миокард // Морфологические ведомости. 2009. № 3-4. С. 62-65.
7. *Непомнящих Л.М.* Патологическая анатомия и ультраструктура сердца: Комплексное морфологическое исследование общепатологического процесса в миокарде. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд.-ие. 1981. С. 324.
8. *Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Ларионов П.М., Шурыгин М.Г.* Регенерация миокарда: Пролиферативный потенциал кардиомиоцитов и индукция кардиомиогенеза при альтернативной и пластической недостаточности сердца // Вестник РАМН. 2010. № 5. С. 3-11.

9. Павлова С.В., Перовский П.П., Чепелева Е.В. и др. Характеристика кардиальных культур клеток, полученных из экспланта сердечной мышцы человека // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2013. № 3. С. 132-140.
10. Рубина К.А., Мелихова В.С., Парфенова Е.В. Резидентные клетки – предшественники в сердце и регенерация миокарда // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2007. № 1. Т. 2. С. 29-35.
11. Румянцев П.П. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. - Л.: Наука. 1982. С. 283.
12. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. - М.: Профиль-2С. 2010. 358 с.
13. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. - М.: Медицина. 1981. 312 с.
14. Хасанов Р.А., Мулдашев Э.Р., Булатов Р.Т. и др. Экспериментально-морфологическое исследование гомогенизированных аллотрансплантатов // Новые технологии микрохирургии глаза. – М. 1998. С. 64-66.
15. Хлопонин П.А. Малодифференцированные кардиомиоциты в нормальном и репаративном кардиомиогенезе. Вопросы морфологии XXI века. Выпуск 3. – СПб: Изд-во ДЕАН. 2012. С. 88-94.
16. Anversa P., Leri A., Kajstura J. Cardiac Regeneration // J. Am. Coll. Cardiol. 2006. Vol. 47. P. 1769-1776.
17. Cheng K., Ibrahim A., Hensley M.T., Shen D., Sun B., Middleton R., Liu W., Smith R.R., Marbán E. Relative roles of CD90 and c-kit to the regenerative efficacy of cardiosphere-derived cells in humans and in a mouse model of myocardial infarction // J. Am. Heart Assoc. 2014. Vol. 9. No. 3. P. 5.
18. Craig W., Kay R., Cutler R.L., Lansdorp P.M. Expression of Thy-1 on human hematopoietic progenitor cells // J. Exp. Med. 1993. Vol. 1. No. 177(5). P. 1331-1342.
19. Gago-Lopez N., Awaji O., Zhang Y., Ko C., Nsair A., Liem D., Stempien-Otero A., MacLellan W.R. THY-1 receptor expression differentiates cardiosphere-derived cells with divergent cardiogenic differentiation potential // Stem Cell Reports. 2014. Vol. 18. No. 2(5). P. 576-591.
20. Hierlihy A.M., Seale P., Lobe C.G., et al. The post-natal heart contains a myocardial stem cell population // FEBS Lett. 2002. Vol. 530. P. 239-243.
21. Jin S.P., Jae H.L., Chung S.H., Chuke D.W., Gou Y.K. Clinics in orthopedic surgery. 2011. Vol. 3. No. 4. P. 315-324.
22. Muldashev E.R., Muslimov S.A., Musina L.A., et al. The role of macrophages in the tissues regeneration stimulated by the biomaterials // Cell Tissue Bank. 2005. Vol. 6. No. 2. P. 99-107.
23. Park J.S., Lee J.H., Han Ch.S., et al. Effect of hyaluronic acid-carboxymethylcellulose solution on perineural scar formation after sciatic nerve repair in rats // Clinics in orthopedic surgery. 2011. No. 3. P. 315-324.
24. Stern R. Devising a pathway for hyaluronan catabolism: are we there yet? // Glycobiology. 2003. Vol. 13. No. 12. P. 105-115.
25. Taghavi Sh., George J.C. Homing of stem cells to ischemic myocardium // Am. J. Transl. Res. 2013. Vol. 5. No. 4. P. 404-411.
26. Yoshimura A., Muto G. TGF- $\beta$  function in immune suppression // Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2011. Vol. 350. P. 127-147.

## Morphological aspects of regenerative potential of myocardial ischemic injury after allogenic biomaterial applications

A.I. Lebedeva, S.A. Muslimov, L.A. Musina

Objective – to determine the main mechanisms for the regeneration of myocardial ischemic damage after using allogenic biomaterial. The rabbits were performed ligation of the anterior descending branch of the left coronary artery. After 5 days in the intramyocardial ischemia zone injected allogenic biomaterial, resulting formed connective-muscular reclaimed, with a predominance of muscle tissue. It was found that the products of biodegradation of the biomaterial profibrogenic suppress the activity of the cells, stimulate angiogenesis and regenerative capacities of the myocardium. Cardiac myoprogenitor cells differentiated into mature cardiomyocytes.

**Kew words:** allogenic biomaterial, ischemic myocardium, cardiomyocyte, regeneration.