

## РОЛЬ МАКРОФАГОВ В РЕГЕНЕРАЦИИ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ АЛЛОГЕННЫМ БИОМАТЕРИАЛОМ

© 2019 г. А. И. Лебедева<sup>1,2\*</sup>, С. А. Муслимов<sup>1,2</sup>, С. А. Афанасьев<sup>3</sup>,  
Д. С. Кондратьева<sup>3</sup>

\*E-mail: jeol02@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии»  
Минздрава России, Уфа, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Уфа, Россия;

<sup>3</sup>ФГБНУ НИИ кардиологии, Томского НИМЦ (Национальный исследовательский  
медицинский центр), Томск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 03.04.2019

Аллогенные биоматериалы (АБ) после имплантации в дефект мышцы голени крысы и рог матки крысы способствуют регенерации тканей за счет миграции М1 макрофагов, экспрессирующие провоспалительные факторы – TNF $\alpha$ , IL-1. Они ингибируют миграцию М2 макрофагов, факторов фиброза, способствуют миграции и дифференциации миоцитов. В ишемически поврежденном миокарде после имплантации АБ напротив обнаруживался дефицит макрофагов CD68, но и высокая экспрессия клетками Timp2 по сравнению с контролем, что могло способствовать снижению площади рубца. После введения АБ в мышечных тканях выявлены резидентные макрофаги с фенотипом IL1<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>/PCNA<sup>+</sup>/Хейл<sup>+</sup>/vimentin<sup>+</sup>/FGF1<sup>-</sup>/TGF- $\beta$ 1<sup>-</sup>.

**Ключевые слова:** аллогенный биоматериал, мышечная ткань, макрофаги, регенерация

DOI: 10.31857/S102872210006676-8

**Адрес:** 450075, Уфа, ул. им. Р. Зорге, д. 67/1, ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России, отдел морфологии, Лебедева Анна Ивановна.  
Тел./факс: +7(347) 293 42 35, 8 903 351 02 07 (моб.)

**E-mail:** Jeol02@mail.ru

**Авторы:**

**Лебедева А. И.**, д.б.н., ст.н.с. отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ, Уфа, Россия; доцент кафедры анатомии человека ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Уфа, Россия;

**Муслимов С. А.**, д.м.н., вед.н.с., зав. отделом морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ, Уфа, Россия; доцент кафедры анатомии человека ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Уфа, Россия;

**Афанасьев С. А.**, д.м.н., заведующий лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики. ФГБНУ НИИ кардиологии, Томского НИМЦ (Национальный исследовательский медицинский центр), Томск, Россия;

**Кондратьева Д. С.**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики. ФГБНУ НИИ кардиологии, Томского НИМЦ (Национальный исследовательский медицинский центр), Томск, Россия.

Успех регенерации мышечной ткани зависит от фенотипа макрофагов и их секреторной активности, которая носит дуалистический характер.

**Целью** исследования явилось определение роли макрофагов и их цитокинового спектра при регенерации скелетной, гладкой и сердечной мышечных тканей при имплантации аллогенного биоматериала.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследования регенерации мышечной ткани использовали крыс линии Wistar. В икроножной мышце моделировали субтотальный дефект 3–4 мм, который ушивали викрилом (контроль n=36). В опытной серии (n=36) в аналогичный дефект укладывали аллогенный губчатый биоматериал (АГБ). Для исследования регенерации гладкой мышечной ткани продольный разрез маточного рога крыс производили фокусированным лучом CO<sub>2</sub>-лазера. В контроль-

ной группе животных (n=10) дефект ушивали. В опытной группе (n=15) заполняли дефект аллогенным биоматериалом для замещения объемных дефектов. Моделирование инфаркта миокарда осуществляли путем перевязки коронарной артерии. Одновременно в контрольной группе (n=50) вводили физиологический раствор, а в опытной группе (n=50) вводили суспензию диспергированного аллогенного биоматериала (ДАБ) в бассейн стенозированной артерии. Использовали гистологические (окраска гематоксилином/эозином, по Ван Гизону, по Маллори), гистохимические (окраска по Хейлу – выявление гликозаминогликанов (ГАГ)), альциановым синим), иммуногистохимические (CD68, TGF- $\beta$ 1, TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , PCNA, vimentin, FGF 1, c-kit, GATA-4) и электронно-микроскопические, морфометрические и статистические методы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дефект скелетной мышцы в опытной группе замещался мышечной тканью на 98% со всеми структурными элементами. В миометрии рога матки крысы формировался полноценный регенерат в виде разновекторных кластеров лейомиоцитов в окружении тонких соединительнотканых прослоек. В зоне дефектов биоматериал постепенно деградировал, а продукты его резорбции становились хемоаттрактантами для моноцитов/макрофагов в большом количестве и способствовали трансформации в фенотипически зрелые фагоцитарные формы. Пик активности макрофагов совпадал и коррелировал с динамикой экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1 и TNF $\alpha$ , что дает основание предполагать развитие провоспалительной M1 фазы активации клеток. Определялись ГАГ позитивные макрофаги. В регенерате наблюдалось низкое содержание TGF- $\beta$ 1<sup>+</sup> и FGF-1<sup>+</sup> клеток, чему способствовал дефицит Vimentin<sup>+</sup> клеток, что продлеvalo регенерационный период и содействовало индукции всех компонентов мышечной ткани. В контрольной группе численность CD68<sup>+</sup> была значительно меньше, чем в опытной группе, определялась высокая концентрация TGFb<sup>+</sup>, FGFb<sup>+</sup>, vimentin<sup>+</sup> клеток, формировался грубоволокнистый рубец. В пролиферативной фазе воспаления выявлялась реакция макрофагов CD68<sup>+</sup> без признаков трансформации в гигантоклеточные формы со следующими фенотипическими характеристиками: IL-1<sup>+</sup> /CD68<sup>+</sup> /PCNA<sup>+</sup> / Хейл<sup>+</sup> / vimentin<sup>+</sup>

/FGF1<sup>-</sup> /TGF- $\beta$ 1<sup>-</sup>. Подобные макрофаги широко распространены в тканях различных органов: микроглиальные клетки головного мозга производные желточного мешка, гиалоциты стекловидного тела, плацентарные макрофаги и т.д. Можно предположить, что их наличие в зоне регенерации связано с синтезом углеводного компонента внеклеточного матрикса, определяющего зрелость коллагеновых волокон соединительнотканых прослоек, создания гомеостаза в очаге замещения реактивной зоны и играть структурно-информативную роль для клеточных коопераций [1]. В результате заживления в ишемически поврежденном миокарде индекс площади рубца в опытной группе был в 2,74 раза меньше, чем в контрольной. В опытной группе течение воспалительного процесса характеризовалось наступлением ранней пролиферативной стадии. Этому способствовало напротив меньшее количество макрофагов. Наряду с костномозговыми предшественниками макрофагов, также выявлены макрофаги мезенхимного происхождения – Хейл<sup>+</sup> и Timp-2<sup>+</sup>. Продукты биодеградации ДАБ привлекали стволовые миокардиальные клетки c-kit<sup>+</sup>, которые в 6,24 раза превосходили численность контрольной группы в начальные сроки эксперимента. Несмотря на аутогенное происхождение, они подвергались фагоцитозу макрофагами, что связано с генетически запрограммированным механизмом антитуморогенности. Тем не менее, численность свободных c-kit<sup>+</sup> клеток в опытной группе превосходила контрольную группу. Подход к модуляции макрофагов заключается в изменении их окружения. Морфофункциональные свойства макрофагов формируются микроокружением органа проживания [2]. Следовательно, ДАБ в условиях острой ишемии миокарда оказывал гистопротекторный эффект за счет ингибирования миграции макрофагов и индукции клеточного кардиомиогенеза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

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.
2. *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.

## THE ROLE OF MACROPHAGES IN REGENERATION OF MUSCLE TISSUE INDUCED BY ALLOGENIC BIOMATERIAL

© 2019 A. I. Lebedeva<sup>1,2\*</sup>, S. A. Muslimov<sup>1,2</sup>, S. A. Afanasiev<sup>3</sup>,  
D. S. Kondratieva<sup>3</sup>

\*E-mail: jeol02@mail.ru

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Institution «The Russian Eye and Plastic Surgery Centre»  
of the Russian Federation Health Ministry, Ufa, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Education Institution «Bashkir State Medical University»  
of the Russian Federation Health Ministry, Ufa, Russia;

<sup>3</sup>Federal State Budgetary Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research  
Medical Centre, Tomsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 03.04.2019

Allogeneic biomaterials (AB) after implantation in a defect in the calf muscles of rats and the uterine horn of the rat contribute to the regeneration of tissues due to migration of M1 macrophages expressing Pro-inflammatory factors, TNF $\alpha$ , IL-1. They inhibit the migration of M2 macrophages, fibrosis factors, promote migration and differentiation of myocytes. IN ischemic damaged myocardium after AB implantation, on the contrary, cd68 macrophage deficiency was found, but high expression by Timp2 cells compared to the control, which could contribute to the reduction of scar area. After the introduction of AB in muscle tissues revealed resident macrophages with phenotype IL-1<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>/PCNA<sup>+</sup>/Hale<sup>+</sup>/vimentin<sup>+</sup>/FGF1<sup>-</sup>/TGF- $\beta$ 1<sup>-</sup>.

*Key words:* allogeneic biomaterial, muscle tissue, macrophages, regeneration

### Authors:

**Lebedeva A. I.**, ✉ BD, PhD, senior research assistant of the Department of morphology, FSBI «The Russian Eye and Plastic Surgery Centre» of the RF Health Ministry, FSB Education Institution «Bashkir State Medical University» of the RF Health Ministry, Ufa, Russia. E-mail: jeol02@mail.ru;

**Muslimov S. A.**, MD, PhD, Prof., FSBI «The Russian Eye and Plastic Surgery Centre» of the RF Health Ministry, FSB Education Institution «Bashkir State Medical University» of the RF Health Ministry, Ufa, Russia;

**Afanasiev S. A.**, MD, PhD, Prof. FSBR Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Centre, Tomsk, Russia;

**Kondratieva D. S.**, PhD in Biology, research associate, FSBR Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Centre, Tomsk, Russia.