

## ПАТОМОРФОЛОГИЯ МИОКАРДА ПРИ ОТДАЛЕННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ КОСТНОЙ ТКАНИ И ПРИМЕНЕНИИ ЭКЗОСОМ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Кузькин С.А.<sup>1</sup>, Майбородин И.В.<sup>1,2</sup>, Колдышева Е.В.<sup>1</sup>, Клиникова М.Г.<sup>1</sup>,  
Майбородина В.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной патологии и патоморфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, e-mail: pathol@inbox.ru;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск

Изучены структурные реакции миокарда кроликов при отдаленном повреждении костной ткани проксимальных мыщелков большеберцовой кости (ПМБК) и применении экзосом мультипотентных стромальных клеток (ЭМСК) как потенциального регенеративного компонента. В условиях асептики и антисептики одним животным в дефект ПМБК на правой и левой конечностях вводили теплый физиологический раствор на фосфатном буфере, другим – в дефект на обеих конечностях вводили 39 мкг ЭМСК на животное (или 19,5 мкг на одну конечность) в этом же буфере. Морфологический и стереологический анализ миокарда правого и левого желудочков сердца проводили через 3, 7 и 10 суток. Установлено, что повреждение ПМБК сопровождается развитием дистрофических (литических) изменений кардиомиоцитов, отеком миокарда, полнокровием, лейкоцитарной инфильтрацией с преобладанием лимфоцитов. Применение ЭМСК сопровождается более выраженной дилатацией кровеносных сосудов с формированием обширных геморрагий (особенно в начальные сроки эксперимента), формированием тромбов в полостях сердца и его сосудах, пролонгацией явлений отека, но снижением выраженности литических изменений кардиомиоцитов. Наиболее выраженные изменения структурной организации миокарда правого и левого желудочков сердца кроликов после повреждения костной ткани, в том числе и при введении ЭМСК, выявлены через 7 суток эксперимента (уменьшение объемной плотности кардиомиоцитов на 20–22%, увеличение объемной плотности кровеносных капилляров, более выраженное в правом желудочке (до 8,9 раза без использования ЭМСК и до 9,8 раза с их введением), и объемной плотности соединительной ткани в 5–7 раз). Полученные данные свидетельствуют о том, что применение ЭМСК может способствовать снижению литических изменений кардиомиоцитов при сохранении/усилении гемодинамических нарушений в миокарде как ответной реакции на дистантное повреждение костной ткани.

Ключевые слова: повреждение костной ткани, миокард, экзосомы мультипотентных стромальных клеток, структурные перестройки, стереология.

## MYOCARDIAL PATHOMORPHOLOGY IN DISTANT BONE TISSUE DAMAGE AND APPLICATION OF EXOSOMES OF MULTIPOTENT STROMAL CELLS

Kuzkin S.A.<sup>1</sup>, Mayborodin I.V.<sup>1,2</sup>, Koldysheva E.V.<sup>1</sup>, Klinnikova M.G.<sup>1</sup>,  
Mayborodina V.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, e-mail: pathol@inbox.ru;

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Institution of Science «Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS», Novosibirsk

The structural reactions of the rabbit myocardium with distant damage of the bone tissue in proximal tibial condyle (PTC) and the use of exosomes of multipotent stromal cells (EMSCs) as a potential regenerative component were studied. Under aseptic and antiseptic conditions, one animal was injected with warm saline solution in phosphate buffer into the defect of the PTC on the right and left limbs, while others were injected into the defect on both limbs with 39 µg of EMSCs per animal (or 19.5 µg per one limb) in the same buffer. Morphological and stereological analysis of the myocardium of the right and left ventricles of the heart was performed after 3, 7 and 10 days. It was found that damage of the PTC in rabbits is accompanied by the development of dystrophic (lytic) changes in cardiomyocytes, myocardial edema, plethora, leukocyte infiltration with a predominance of lymphocytes. The use of EMSCs is accompanied by a more pronounced dilatation of blood vessels with the formation of extensive hemorrhages (especially in the initial stages of the experiment), the formation of blood clots in the cavities of the heart and its vessels, prolongation of edema, but a decrease in the severity of lytic changes in cardiomyocytes. The most pronounced changes in the structural organization of the

myocardium of the right and left ventricles of the heart of rabbits after damage of bone tissue, including with the introduction of EMSCs, were revealed after 7 days of the experiment, namely, a decrease in the volume density of cardiomyocytes by 20–22%, an increase in the volume density of blood vessels (more pronounced in the right ventricle – up to 8.9 times without the use of EMSCs and up to 9.8 times with their introduction) and the volume density of connective tissue 5–7 times. The data obtained indicate that the use of EMSCs can help reduce lytic changes in cardiomyocytes while maintaining/increasing hemodynamic disturbances in the myocardium as responses to distant damage of bone tissue.

---

Keywords: bone damage, myocardium, exosomes of multipotent stromal cells, structural reorganization, stereology.

Травмы и их последствия являются важной проблемой медицины, поскольку количество травмированных пациентов не поддается точному подсчету и может сравниться с общим народонаселением стран. Пациенты, которые выживают в течение первых 48 ч после получения травмы, остаются подверженными риску множественных осложнений сердечно-сосудистой системы, в их числе снижение фракции выброса левого желудочка, ишемическая болезнь сердца в острой и хронической форме, аритмии, повреждения клапанов и регургитация, аномалии циклов сокращения и расслабления миокарда, разрыв стенок миокарда и потенциально отсроченная смерть [1-4]. Исследования, связанные с воздействием травмы на миокард, в основном сосредоточены на оценке патологического повреждения из-за прямой травмы сердца, поэтому работы, связанные с опосредованным влиянием травматических повреждений, в частности опорно-двигательного аппарата, немногочисленны.

Не менее важным является поиск эффективных цитопротекторов и биологически активных веществ, стимулирующих регенераторные процессы, снижающих выраженность воспалительных реакций, способствующих развитию посттравматических осложнений [5-7]. На основе клинических и экспериментальных наблюдений сформулирована концепция системного воспалительного ответа, в которой обосновываются причины полиорганной недостаточности у пациентов в посттравматическом периоде. Согласно этой концепции системный воспалительный ответ обусловлен местным разрушением тканей и накоплением в периферическом кровотоке токсичных побочных продуктов окислительного стресса, приводящим к высвобождению медиаторов воспаления [8]. В последнее время большое внимание уделяется использованию клеточных технологий, в том числе основанных на применении экзосом мультипотентных стромальных клеток (ЭМСК), для стимуляции регенераторных процессов [9, 10]. Однако практически неизученными остаются вопросы влияния ЭМСК на мышцу сердца при их дистантном введении для терапии повреждений костной ткани.

Цель исследования – оценка характера и выраженности структурной реорганизации миокарда при отдаленном повреждении костной ткани проксимального мыщелка большеберцовой кости (ПМБК) и применении ЭМСК как потенциального регенеративного компонента.

## Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на беспородных кроликах обоего пола возрастом 4–6 месяцев и массой 3–4 кг. Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с ГОСТ 33215-2014 (Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур) и ГОСТ 33216-2014 (Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами).

На начальном этапе проводили внутривенную премедикацию (атропина сульфат 0,1% – 0,22–0,27 мг/кг; димедрол 1% – 4,6–5,2 мг/кг; дроперидол 0,25% – 1,25 мг; кеторолака триметамин 1% – 10 мг). В качестве индукции анестезии использовали пропофол (1% – 15 мг/кг внутривенно), для поддержания анестезии также применяли пропофол (1% – 25–30 мг/кг/час внутривенно). Инфузионную терапию осуществляли 0,9%-ным раствором натрия хлорида 15–25 мл/кг, в зависимости от выраженности кровопотери. Респираторную поддержку при необходимости проводили масочным способом с инсуфляцией 100%-ного кислорода. Под общей анестезией ножницами проводили удаление волосяного покрова в месте предполагаемого хирургического вмешательства на обеих конечностях в области коленных суставов.

В условиях асептики и антисептики при использовании тотальной внутривенной анестезии пропофолом в ПМБК правой и левой конечностей кроликов стоматологическим бором диаметром 2 мм с охлаждением стерильным физиологическим раствором создавали стандартизированное отверстие глубиной 4 мм. Животные были разделены на две группы: 1-я группа – дефекты ПМБК заполняли инсулиновым шприцем теплым физиологическим раствором на фосфатном буфере (27 кроликов); 2-я группа – в дефекты вводили 39 мкг ЭМСК на животное (или 19,5 мкг на одну конечность) в этом буфере (30 животных). Операционную рану ушивали послойно без натяжения. Через 3, 7 и 10 суток после операции животных выводили из эксперимента дислокацией шейных позвонков. В качестве контроля использованы интактные кролики (5 особей), которых содержали в таких же условиях вивария.

ЭМСК получали из мультипотентных стромальных клеток, выделенных из костного мозга крыс-самцов инбредной линии Wag (массой 180 г, в возрасте 6 месяцев), характеризовали и культивировали в соответствии с рекомендациями литературы [11]. Кондиционную среду для выделения ЭМСК собирали на стадии стационарного роста стабильной культуры 3-го пассажа предифференцированных в костном направлении МСК (0,1 мкМ раствора дезоксиметазона, 50 мкМ раствора аскорбиновой кислоты и 10 мМ раствора  $\beta$ -глицерофосфата, все реактивы производства «Sigma», США) [11, 12] при

достижении конфлюэнтности клеточного монослоя 80–90%, согласно указаниям [13, 14].

Для удаления клеток, их остатков, апоптозных телец и крупных везикул кондиционную среду после культивирования МСК последовательно центрифугировали: 10 мин при 300 g, 10 мин при 2000 g, 30 мин при 12000 g. ЭМСК осаждали, центрифугируя супернатант 2 ч при 100000 g, ресуспендировали в 200 мкл физиологического раствора на фосфатном буфере и повторно центрифугировали при 100 000 g в течение 2 ч. Выделенные ЭМСК ресуспендировали в 200 мкл забуференного физиологического раствора, пропускали через фильтр с порами 0,22 мкм. Количество ЭМСК определяли по содержанию белка в осадке, использовали коммерческий набор «Qubit protein assay kit» (Thermo Fisher Scientific, USA) и флуориметр «Qubit® 3.0».

Для морфологического исследования из сердец кроликов вырезали образцы толщиной около 5 мм так, чтобы в образце оказались правые и левые предсердия и желудочки с максимальной площадью полостей. Затем по перегородке разделяли правые и левые отделы, которые обрабатывали отдельно. Образцы фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7,4) не менее суток, обезвоживали и просветляли в реактиве «Изопреп» («БиоВитрум», Россия), заключали в гистопласт. Гистологические срезы правых и левых отделов сердца толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, исследовали при увеличении до 1200 раз на световом микроскопе Axioimager M1 (Carl Zeiss, Germany).

Стереологический анализ миокарда правого и левого желудочков сердца проводили на микрофото, сделанных при увеличении в 200 раз (тестовая площадь  $3,5 \times 10^5$  мкм<sup>2</sup>) с помощью цифровой фотокамеры и программного обеспечения Axiovision (Zeiss, Германия). Оценивали объемную плотность кардиомиоцитов, кровеносных капилляров, соединительной ткани (суммарно клетки, волокна и основное вещество). Рассчитывали также объемные отношения капилляров к кардиомиоцитам и соединительной ткани к кардиомиоцитам. Объем выборки составил 25 неперекрывающихся полей зрения как для правого, так и для левого желудочков сердца каждого животного.

Статистический анализ полученных данных осуществляли с использованием программы MS Excel 7.0 (Microsoft, США); вычисляли среднее арифметическое и его стандартное отклонение. Значимость различий параметров оценивали с использованием критерия Стьюдента; различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследования и их обсуждение**

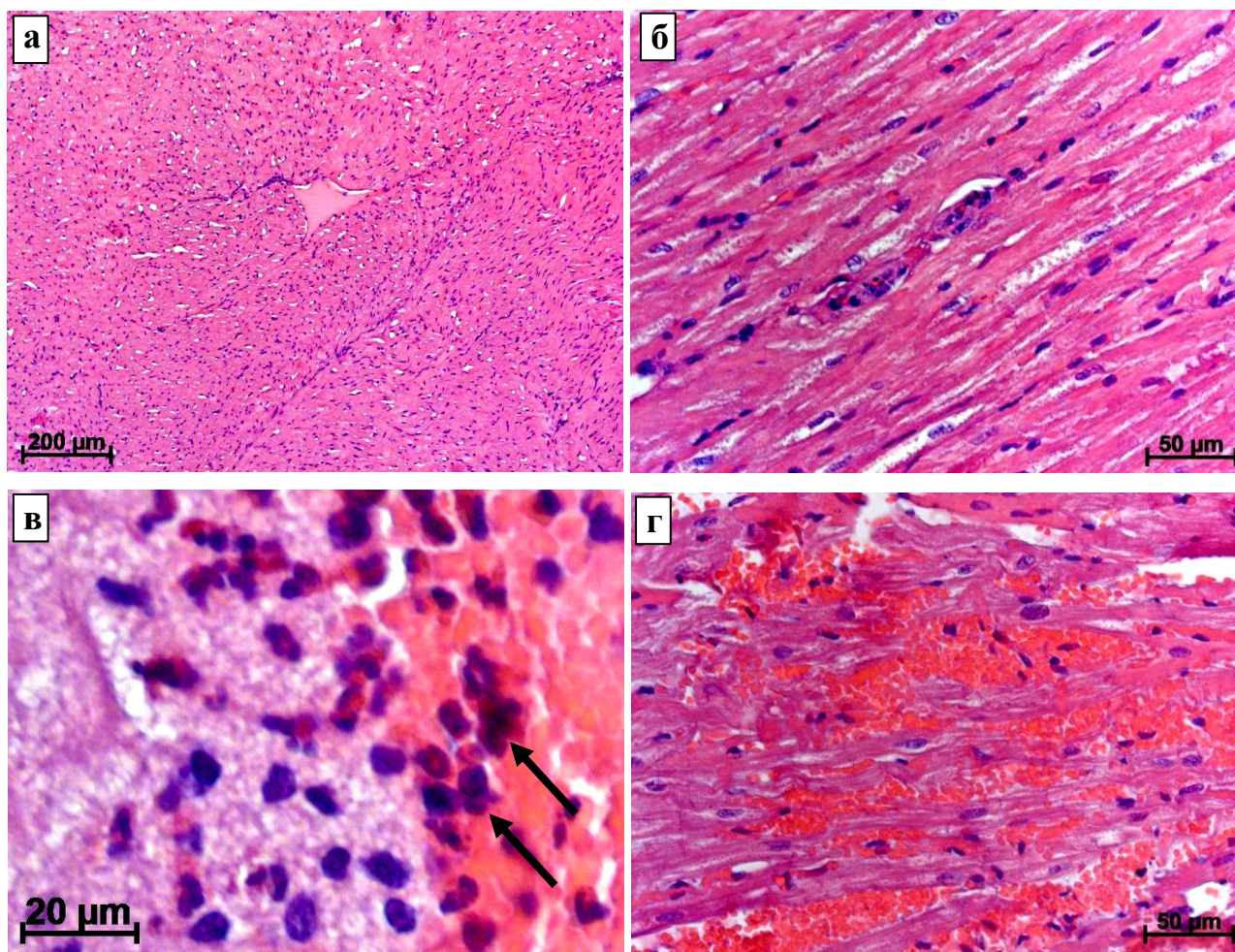
В миокарде левого и правого желудочков интактных кроликов наблюдали умеренно выраженные явления полнокровия сосудов и моноклеарной инфильтрации (рис. 1а), что, скорее всего, было связано со стрессированием животных во время выведения из

эксперимента, премедикацией и наркозом. Через 3 суток после повреждения ПМБК в миокарде обоих желудочков отмечались дистрофические изменения кардиомиоцитов, более заметные в левом желудочке, которые выражались в разреженности их саркоплазмы, особенно в перинуклеарной зоне (рис. 1б). Наблюдались выраженные расширения интерстициальных пространств и лимфатических сосудов. Появлялась моноклеарная инфильтрация (диффузная и периваскулярная), встречались единичные нейтрофилы (рис. 1б).

У одного животного через 3 суток после повреждения трубчатых костей нижних конечностей в правых полостях сердца были найдены фибриновые тромбы, обильно инфильтрированные гемопоэтическими клетками, происходящими, скорее всего, из красного костного мозга (рис. 1в). Возможно, что при массивном повреждении костной ткани, в которой находятся кроветворные структуры красного костного мозга, при создании дефекта ПМБК происходит попадание клеток костного мозга в кровь. Сначала они попадают в правое предсердие и правый желудочек, где остаются до полного лизиса или организации, затем могут мигрировать далее – в легочные артерии с вероятностью их эмболии.

Через 3 суток после повреждения ПМБК с последующим введением ЭМСК в миокарде левого желудочка кроликов были отмечены еще более выраженные дистрофические изменения кардиомиоцитов и явления отека на фоне очень значительного расширения кровеносных капилляров. В некоторых случаях миокард вследствие выраженного полнокровия был имbibирован форменными элементами крови (рис. 1г). Присутствовала умеренная лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация с небольшой примесью нейтрофилов. Клетки костного мозга в сердце не обнаружены ни в одном случае, однако у 2 животных в полостях желудочков были найдены тромбы, иногда морфологически напоминающие таковые при эндокардите.

К 7-м суткам после создания дефектов ПМБК значительно усиливались дистрофические изменения кардиомиоцитов (их саркоплазма становилась более разреженной, литически измененной) (рис. 2а). Сохранялись интерстициальный отек и лимфостаз. К этим изменениям присоединилась дилатация кровеносных сосудов, обусловленная их полнокровием. Характер воспалительноклеточной инфильтрации существенно не менялся, по-прежнему преобладали лимфоциты, присутствовали единичные нейтрофилы.



*Рис. 1. Миокард кроликов. Окраска гематоксилином и эозином.*

*а – intactное животное, умеренное венозное полнокровие; б – дистрофические изменения кардиомиоцитов, мононуклеарная инфильтрация через 3 суток после повреждения ПМБК; в – клетки миелоидного ряда (стрелки) в сгустках крови и фибрина через 3 суток эксперимента; г – выраженное полнокровие с диапедезом эритроцитов через 3 суток после повреждения и введения ЭМСК*

У животных с дефектами ПМБК и введением ЭМСК в данный срок эксперимента отмечались менее выраженные дистрофические изменения кардиомиоцитов (рис. 2 б), чем в группе без использования данной клеточной технологии. В то же время введение ЭМСК не оказывало существенного влияния на состояние микроциркуляторного русла и выраженность мононуклеарной инфильтрации. Вместе с этим необходимо отметить развитие умеренного периваскулярного склероза, тромбоз и облитерацию просвета некоторых сосудов.

Через 10 суток после создания дефекта ПМБК миокард был компактным. В кардиомиоцитах сохранялись литические изменения, но они были менее выраженными, чем в предыдущий срок (рис. 2в); присутствовало небольшое количество кардиомиоцитов с



кариорексисом и кариопикнозом (некробиотически измененных кардиомиоцитов). Снижалась также интенсивность отека, но сохранялась на том же уровне диффузная мононуклеарная инфильтрация миокарда. Следовательно, по мере нарастания репаративной регенерации поврежденных тканей задних конечностей кроликов и стихания воспаления снижались поступление в кровь и транспортировка к сердцу продуктов распада, что обуславливало постепенную нормализацию миокарда.

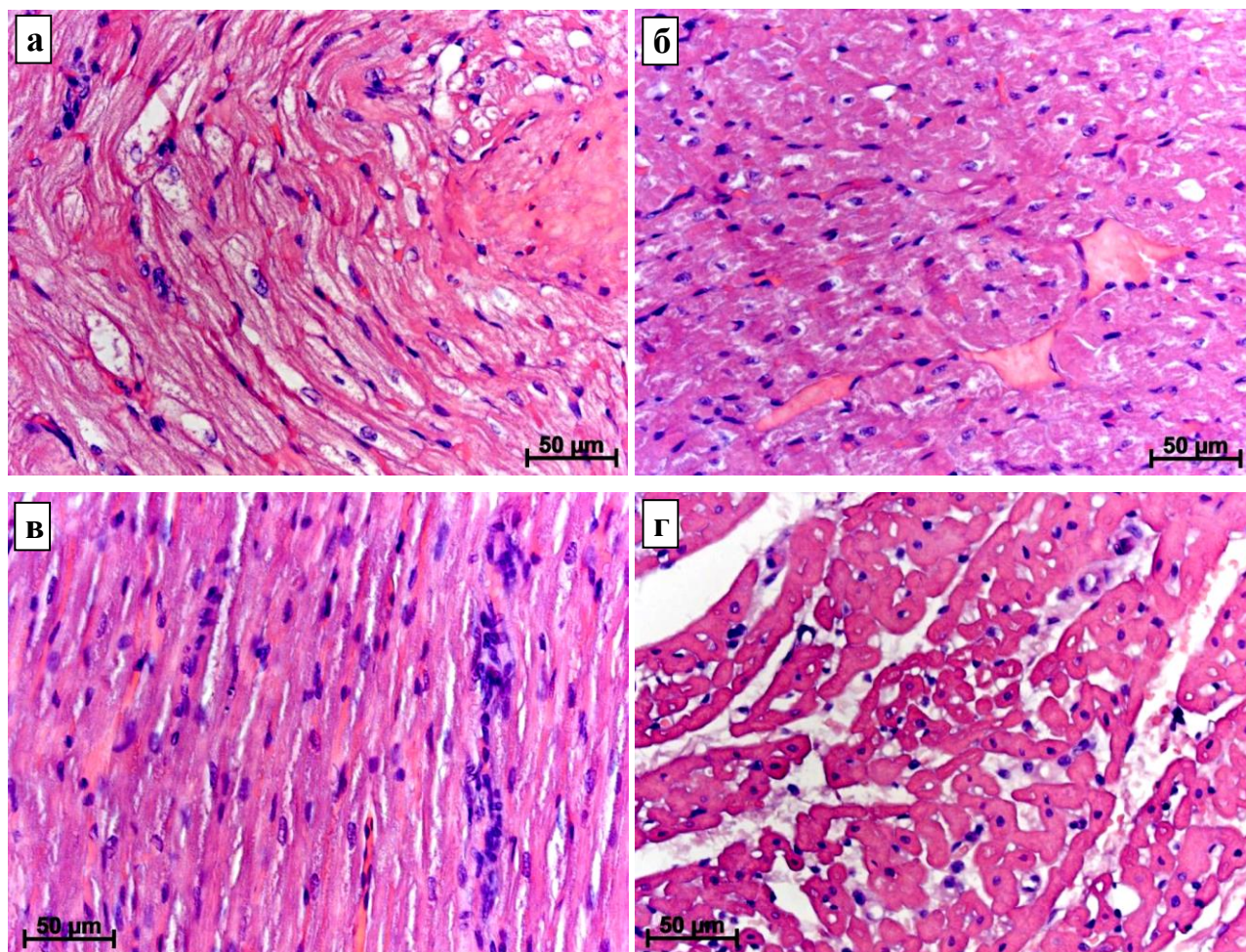


Рисунок 2 – Миокард кроликов после повреждения ПМБК и введения ЭМСК.

Окраска гематоксилином и эозином.

*а* – выраженные дистрофические изменения кардиомиоцитов через 7 суток после повреждения; *б* – гиперемия и диффузная мононуклеарная инфильтрация через 7 суток после повреждения и введения ЭМСК; *в* – умеренные дистрофические изменения кардиомиоцитов, усиление диффузной мононуклеарной инфильтрации через 10 суток после повреждения; *г* – выраженный межпучковый и межволоконный отек и лимфостаз, мононуклеарная инфильтрация через 10 суток после повреждения и введения ЭМСК

Сходные изменения миокарда описаны при экспериментальной черепно-мозговой травме у крыс [15]. В ранний посттравматический период (3–7 суток) регистрировались

наиболее выраженные структурные изменения: расширение большинства сосудов микроциркуляторного русла, периваскулярный отек, диапедзные кровоизлияния, в просвете капилляров – мембранные структуры и тромбы из эритроцитов и тромбоцитов. Наблюдались контрактурные и литические изменения части кардиомиоцитов. К 12-м суткам характер изменений сохранялся, но они были менее выраженными.

Через 10 суток после создания дефекта ПМБК и использования ЭМСК в кардиомиоцитах сохранялись в основном околядерные «опустошения»; наблюдались также кардиомиоциты с кариорексисом и кариопикнозом. Отмечалось неравномерное расширение межпучковых интерстициальных пространств (рис. 2г), обусловленное отеком, интенсивность которого в левом желудочке была выше, чем в правом. Также сохранялись облитерация отдельных сосудов и умеренный периваскулярный склероз.

По данным стереологического анализа миокарда левого и правого желудочков сердца кроликов, повреждение ПМБК сопровождалось уменьшением объемной плотности кардиомиоцитов во все сроки эксперимента в обоих желудочках, но наиболее выраженные изменения происходили через 7 суток (уменьшение соответственно на 19,6% и 21,8%) (табл. 1, 2). К 10-м суткам отмечалась тенденция к увеличению объемной плотности кардиомиоцитов в миокарде обоих желудочков, но эти показатели оставались уменьшенными соответственно на 11% и 5% по сравнению с интактным контролем. При повреждении ПМБК и введении ЭМСК в дефект кости выявлен такой же характер изменений объемной плотности кардиомиоцитов в миокарде левого и правого желудочков – наиболее выраженное уменьшение через 7 суток (соответственно на 20% и 22%) и тенденция к увеличению этого показателя через 10 суток (но при этом объемная плотность кардиомиоцитов оставалась уменьшенной соответственно на 15% и 17,5%).

Таблица 1

Стереологический анализ миокарда левого желудочка сердца кроликов  
в различные сроки после повреждения ПМБК ( $S \pm \sigma$ )

Показатель	Интактный контроль	Время после имплантации		
		3 суток	7 суток	10 суток
	Без введения ЭМСК			
Объемная плотность (в %):				
кардиомиоцитов	93,70±2,18	82,40±2,74#	75,30±1,66#\$	83,30±2,83#&
капилляров	3,63±0,81	4,89±1,13#	10,34±1,08#\$	3,89±1,06&
соединительной ткани	2,67±0,81	12,71±1,39#	14,36±1,11#	12,81±0,90
Объемное отношение (число): капилляров к кардиомиоцитам	0,039±0,01 4	0,059±0,012	0,137±0,014# \$	0,047±0,019
	соединительной ткани к кардиомиоцитам	0,028±0,01 5	0,154±0,020	0,191±0,013# \$



	С введением ЭМСК			
Объемная плотность (в %):				
кардиомиоцитов	93,70±2,18	80,10±1,31#	74,9±1,27#\$	80,01±2,18#&
капилляров	3,63±0,81	11,00±0,86#	7,91±0,72#	2,92±1,02\$&
соединительной ткани	2,67±0,81	8,90±0,84#	17,19±1,30#\$	17,07±1,15#\$
Объемное отношение (число): капилляров к кардиомиоцитам	0,039±0,01 4	0,137±0,011	0,105±0,09	0,036±0,016
соединительной ткани к кардиомиоцитам	0,028±0,01 5	0,111±0,011	0,229±0,013	0,213±0,017

Примечание: # – достоверные отличия от интактного контроля ( $p \leq 0,05$ ); \$ – достоверные отличия от 3-х суток после операции ( $p \leq 0,05$ ); & – достоверные отличия от 7-х суток после операции ( $p \leq 0,05$ ).

Таблица 2

Стереологический анализ миокарда правого желудочка сердца кроликов  
в различные сроки после повреждения ПМБК ( $S \pm \sigma$ )

Показатель	Интактный контроль	Время после имплантации		
		3 суток	7 суток	10 суток
		Без введения ЭМСК		
Объемная плотность (в %):				
кардиомиоцитов	96,20±2,05	82,10±2,37#	75,21±1,99#\$	91,66±2,29\$&
капилляров	1,23±0,79	5,59±0,92#	10,90±0,94#\$	4,56±0,74&
соединительной ткани	2,55±0,85	12,31±1,55#	13,89±1,09#	3,78±0,96\$&
Объемное отношение (число): капилляров к кардиомиоцитам	0,013±0,014	0,068±0,016	0,145±0,015	0,049±0,015
соединительной ткани к кардиомиоцитам	0,027±0,014	0,150±0,019	0,185±0,015,	0,041±0,016
		С введением ЭМСК		
Объемная плотность (в %):				
кардиомиоцитов	96,20±2,05	80,40±2,23#	75,00±1,50#\$	79,30±3,35#
капилляров	1,23±0,79	12,00±0,82# *	8,34±0,91#	3,97±0,72#&
соединительной ткани	2,55±0,85	7,60±1,08	16,66±0,75#*\$	16,73±1,62
Объемное отношение (число): капилляров к кардиомиоцитам	0,013±0,014	0,149±0,015	0,111±0,012	0,050±0,020
соединительной ткани к кардиомиоцитам	0,027±0,014	0,095±0,020	0,222±0,011	0,211±0,025

Примечание: # – достоверные отличия от интактного контроля ( $p \leq 0,05$ ); \$ – достоверные отличия от 3-х суток после операции ( $p \leq 0,05$ ); & – достоверные отличия от 7-х суток после операции ( $p \leq 0,05$ ).

Изменения объемной плотности капилляров в миокарде левого и правого желудочков при повреждении ПМБК носили волнообразный характер. При этом в левом желудочке данный показатель возрастал в 2,8 раза через 7 суток эксперимента и к 10-м суткам возвращался до значений интактного контроля (табл. 1), в то время как в правом желудочке

существенное увеличение объемной плотности капилляров (в 4,5 раза) происходило уже через 3 суток; через 7 суток отмечено максимальное увеличение данного показателя (в 8,9 раза), к 10-м суткам он снижался, но оставался увеличенным (в 3,7 раза) по сравнению с интактным контролем (табл. 2). Использование ЭМСК при повреждении ПМБК сопровождалось более значительным увеличением объемной плотности капилляров в миокарде обоих желудочков уже через 3 суток эксперимента (соответственно в 4 и 9,8 раза по сравнению с интактным контролем). Этот показатель оставался увеличенным до 7-х суток эксперимента (соответственно в 2,2 и 6,8 раза), а к 10-м суткам в левом желудочке он снижался до уровня интактного контроля, а в правом – оставался увеличенным в 3,2 раза.

Наиболее значительные изменения объемной плотности после повреждения ПМБК выявлены для компонентов соединительной ткани (суммарно клетки, волокна и основное вещество) миокарда как в левом, так и в правом желудочках (табл. 1, 2). В левом желудочке этот показатель был увеличен через 3 и 10 суток в 4,8 раза, через 7 суток – в 5,4 раза; в правом желудочке через 3 и 7 суток – соответственно в 4,8 и 5,4 раза, через 10 суток этот показатель возвращался к уровню интактного контроля. При использовании ЭМСК этот показатель возрастал в левом желудочке через 3 суток в 3 раза, через 7 и 10 суток – в 6,4 раза. В правом желудочке объемная плотность соединительной ткани возрастала через 3 суток в 3 раза, через 7 и 10 суток – в 6,5 раза.

Разнонаправленные изменения объемной плотности кардиомиоцитов и соединительной ткани обусловили значительное увеличение объемного отношения соединительнотканых компонентов к кардиомиоцитам в обоих желудочках сердца при повреждении ПМБК, в том числе при использовании ЭМСК. Следует отметить, что в обоих желудочках этот показатель в первые 7 суток возрастал в одинаковой степени (соответственно в 5,5 и 6,8 раза без использования ЭМСК и в 3,9 и 8,2 раза при их применении). Через 10 суток при отсутствии введения ЭМСК в левом желудочке данный показатель оставался увеличенным в 5,5 раза, в то время как в правом – в 1,5 раза. При использовании ЭМСК объемное отношение соединительнотканых компонентов к кардиомиоцитам оставалось увеличенным через 10 суток в обоих желудочках в 7,6–7,8 раза. Такое значительное увеличение объемного отношения соединительнотканых компонентов к кардиомиоцитам в обоих желудочках сердца обусловлено преимущественно развитием выраженного отека миокарда в результате нарушений кровообращения, возникающих в ответ на отдаленное повреждение костной ткани и опосредованных медиаторами воспаления.

### **Заключение**

Повреждение ПМБК у кроликов сопровождается развитием дистрофических

(литических) изменений кардиомиоцитов, отеком миокарда, полнокровием, лейкоцитарной инфильтрацией с преобладанием лимфоцитов. В процессе обширных операций на трубчатых костях конечностей возможно попадание структур красного костного мозга в правые полости сердца с формированием тромбов. Применение ЭМСК способствует более выраженной дилатации кровеносных сосудов с формированием обширных геморрагий (особенно в начальные сроки эксперимента), формированию тромбов как в полостях сердца, так и в его сосудах, пролонгации явлений отека, но снижению выраженности литических изменений кардиомиоцитов.

Наиболее выраженные изменения структурной организации миокарда правого и левого желудочков сердца кроликов после повреждения ПМБК, в том числе и при введении ЭМСК, происходят через 7 суток эксперимента: уменьшение объемной плотности кардиомиоцитов на 20–22%, увеличение объемной плотности кровеносных капилляров (более выраженное в правом желудочке – до 8,9 раза без использования ЭМСК и до 9,8 раза – с их введением) и суммарной объемной плотности клеток, волокон и основного вещества соединительной ткани в 5–7 раз.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что в миокарде правого и левого желудочков развиваются одинаковые по направленности структурно-функциональные изменения в ответ на дистантное повреждение костной ткани, которые сохраняются в течение не менее 10 суток. Выявленные изменения составляют структурную основу сердечной недостаточности в посттравматический период. Применение ЭМСК сопровождается снижением литических изменений кардиомиоцитов, но более выраженными нарушениями гемодинамики с формированием обширных геморрагий.

*Работа выполнена при финансовой поддержке ПФНИ ГАН темы (VI.62.2.1, 0309-2016-0006) «Разработка технологий получения материалов для регенеративной медицины и развитие методов восстановления репродуктивного здоровья» и темы (0535-2019-0028) «Клеточные и молекулярные механизмы повреждения и ремоделирования тканей и органов при метаболических нарушениях и токсических воздействиях, разработка технологий стимуляции цитопротекторных реакций и тканеспецифической репаративной регенерации».*

### Список литературы

1. Monaghan S.F., Adams C.A., Stephen A.H., Connolly M.D., Gregg S.C., Machan J.T., Cioffi W.G., Heffernan D.S. Infections after trauma are associated with subsequent cardiac injury. J.Trauma Acute Care Surg. 2012. Vol. 73. no 5. P.1079-1084.
2. Chiang C.H., Liu C.J., Chen P.J., Huang C.C., Hsu C.Y., Chen Z.Y., Chan W.L., Huang P.H., Chen T.J., Chung C.M. Hip fracture and risk of acute myocardial infarction. J. Bone Miner. Res. 2013. vol. 28. no 2. P. 404-411.

3. Tsai C.H., Lin C.L., Hsu H.C., Chung W.S. Increased risk of coronary heart disease in patients with hip fracture. *Osteoporos Int.* 2015. vol. 26 no 6. P. 1849-1855.
4. Weber B., Lackner I., Gebhard F., Miclau T., Kalbitz M. Trauma, a matter of the heart – molecular mechanism of post-traumatic cardiac dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. vol. 22. P. 737-755.
5. Зайцев Р.Р., Бояринова Л.В., Дерюгина А.В., Яковлева Е.И., Никольский В.О., Галкина М.В., Шумилова А.В., Филиппенко Е.С., Бояринов Г.А. Влияние цитопротектора Мексикора на патоморфологические изменения в миокарде при экспериментальной черепно-мозговой травме // *Современные технологии в медицине.* 2016. Т. 8, № 4. С. 271-279.
6. Azevedo L.C. The many facets of sepsis pathophysiology and treatment. *Shock.* 2013. vol. 39 (Suppl 1). P. 1-2.
7. Balk R.A. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): where did it come from and is it still relevant today? *Virulence.* 2014. vol. 5 no 1. P. 20-26.
8. Lenz A., Franklin G.A., Cheadle W.G. Systemic inflammation after trauma. *Injury (Int. J. Care Injured).* 2007. vol. 38. P. 1336-1345.
9. Chen Q., Huang M., Wu J., Jiang Q., Zheng X. Exosomes isolated from the plasma of remote ischemic conditioning rats improved cardiac function and angiogenesis after myocardial infarction through targeting Hsp70. *Aging (Albany NY).* 2020. vol. 12. no 4. P. 3682-3693.
10. Gong M., Yu B., Wang J., Wang Y., Liu M., Paul C., Millard R.W., Xiao D.S., Ashraf M., Xu M. Mesenchymal stem cells release exosomes that transfer miRNAs to endothelial cells and promote angiogenesis. *Oncotarget.* 2017. vol. 8. no 28. P. 45200-45212.
11. Майбородин И.В., Матвеева В.А., Колесников И.С., Дровосеков М.Н., Тодер М.С., Шевела А.И. Регенерация красного костного мозга в кости нижней челюсти крыс после введения в участок повреждения мезенхимальных стволовых клеток // *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2011. № 4. С. 215-221.
12. Zhao J., Xu J.J. Experimental study on application of polypropylene hernia of fat stem cells in rats. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2018. vol. 22. no 18. P. 6156-6161.
13. Blazquez R., Sanchez-Margallo F.M., de la Rosa O., Dalemans W., Alvarez V., Tarazona R., Casado J. Immunomodulatory potential of human adipose mesenchymal stem cells derived exosomes on in vitro stimulated T cells. *Front. Immunol.* 2014. vol. 5. P. 556.
14. Oshchepkova A., Neumestova A., Matveeva V., Artemyeva L., Morozova K., Kiseleva E., Zenkova M., Vlassov V. Cytochalasin-B-inducible nanovesicle mimics of natural extracellular vesicles that are capable of nucleic acid transfer. *Micromachines (Basel).* 2019. vol. 10. no 11. pii: E750.
15. Бояринов Г.А., Дерюгина А.В., Зайцев Р.Р., Яковлева Е.И., Никольский В.О.,



Бояринова Л.В., Галкина М.В. Морфологические изменения миокарда при черепно-мозговой травме // Судебно-медицинская экспертиза. 2017. № 1. С. 4-7.