

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИМПЛАНТАЦИИ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТА В СОСТОЯНИИ УЛЬТРАТОНКИХ ВОЛОКОН С АДСОРБИРОВАННЫМИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫМИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

**И.В. Майбородин¹, Т.В. Михеева¹, С.В. Хоменюк¹, Г.Ю. Ярин², И.А. Вильгельми²,
В.И. Майбородина³, А.И. Шевела¹**

¹ ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН,
Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д. 8

² ФГБУ «Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им.Я.А. Цивьяна» Минздрава России,
Российская Федерация, 630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 17

³ Институт молекулярной патологии и патоморфологии, ФГБНУ «Федеральный исследовательский
центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки
и высшего образования Российской Федерации,
Российская Федерация, 630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, д. 2

Согласно литературным данным, полигидроксиалканоаты (ПГА) способствуют пролиферации и дифференцированию мультипотентных стромальных клеток (МСК), деградация полимера идет медленно, без некротических, воспалительных, склеротических или других нежелательных процессов в рядом расположенных тканях. Методом световой микроскопии были изучены результаты влияния аутологичных мезенхимальных МСК костномозгового происхождения (АММСККП), адсорбированных на ПГА в состоянии ультратонких волокон, на воспалительный процесс, сопровождающий имплантацию этого полимера в эксперименте. Не было найдено адгезии АММСККП к поверхности полимера при пассивной адсорбции. Вокруг ПГА формировались обширные гранулемы инородных тел, обнаружены значительные воспалительные и некротические изменения тканей в этих гранулемах. После внедрения полимера и без АММСККП и с адсорбированными АММСККП происходило постепенное уменьшение объемной плотности сосудистого русла. В гранулемах можно отметить высокую численность всех клеточных элементов, раннее появление и быстрое нарастание относительного содержания гигантских клеток инородных тел, что также не зависело от применения клеточных технологий. По-видимому, если изменения, вызванные адсорбцией АММСККП, все-таки были, они или маскировались или очень быстро нивелировались выраженной воспалительной реакцией, вызванной присутствием полимера на основе ПГА в тканях. Таким образом, полученная гистологическая картина полностью противоречит результатам исследований, показывающим биосовместимость, отсутствие воспалительных и некротических изменений в месте внедрения ПГА в организм, а также хорошую адгезию к нему культивируемых клеток, в том числе МСК.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, полигидроксиалканоаты, воспаление, макрофаги, гигантские клетки инородных тел.

Конфликт интересов: авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Прозрачность финансовой деятельности: работа выполнена при финансовой поддержке ПФНИ ГАН на 2017–2020 гг. (VI.62.2.1, 0309-2016-0006) «Разработка технологий получения материалов для регенеративной медицины и развитие методов восстановления репродуктивного здоровья».

Для цитирования: Майбородин И.В., Михеева Т.В., Хоменюк С.В., Ярин Г.Ю., Вильгельми И.А., Майбородина В.И., Шевела А.И. Морфологические результаты имплантации полигидроксиалканоата в состоянии ультратонких волокон с адсорбированными мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками. Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. 2019;22(2):35–47. doi 10.17223/1814147/69/05

MORPHOLOGICAL RESULTS OF IMPLANTATION OF POLYHYDROXYALKANOATE IN THE FORM OF ULTRATHIN FIBERS WITH ADSORBED MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS

I.V. Maiborodin¹, T.V. Mikheeva¹, S.V. Khomenyuk¹, G.Yu. Yarin², I.A. Vilgelmi²,
V.I. Maiborodina³, A.I. Shevela¹

¹ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Science,
8, Ak. Lavrent'yeva Ave., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

² Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsiviyan,
17, Frunze St., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

³ Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center of Fundamental
and Translational Medicine",
2, Ak. Timakova St., Novosibirsk, 630117, Russian Federation

According to the literature, polyhydroxyalkanoates (PHA) contribute to the proliferation and differentiation of multipotent stromal cells (MSC), polymer degradation is slow, without necrotic, inflammatory, sclerotic or other undesirable processes in nearby tissues. The results of the influence of autologous MSC of bone marrow origin (AMSCBMO), adsorbed on PHA in the form of ultrathin fibers, on the inflammatory process that accompanies the implantation of this polymer in the experiment were studied by method of light microscopy. No adhesion of AMSCBMO to the surface of the polymer during passive adsorption was found. Extensive granulomas of foreign bodies were formed around PHA, significant inflammatory and necrotic changes of the tissues in these granulomas were detected. After the introduction of the polymer both without AMSCBMO and with adsorbed AMSCBMO there was a gradual slow decrease in the volume density of the vessels. In the granulomas, it is possible to note the high number of all cellular elements, the early appearance and the rapid increase in the relative number of giant cells of foreign bodies, all this also did not connected with the use of cellular technologies. Apparently, if the changes caused by AMSCBMO adsorption were, nevertheless, they were either masked or very quickly leveled by a expressiveness inflammatory reaction caused by the presence of a PHA-based polymer in the tissues. Thus, the obtained histological data completely contradicts the results of researchers showing biocompatibility, the absence of inflammatory and necrotic changes in the site of PHA introduction into the organism, as well as good adhesion of cultured cells, including MSC, to it.

Keywords: *multipotent mesenchymal stromal cells, polyhydroxyalkanoates, inflammation, macrophages, giant cells of foreign bodies.*

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

Financial disclosure: The study was carried out with the financial support of the Program of Basic Scientific Research of State Academies for 2017–2020 (VI.62.2.1, 0309-2016-0006) "The development of technologies for obtaining materials for Regenerative Medicine and the development of reproductive health restoration methods"

For citation: Maiborodin I.V., Mikheeva T.V., Khomenyuk S.V., Yarin G.Yu., Vilgelmi I.A., Maiborodina V.I., Shevela A.I. Morphological results of implantation of polyhydroxyalkanoate in the form of ultrathin fibers with adsorbed multipotent mesenchymal stromal cells. 2019;22(2):35–47. doi 10.17223/1814147/69/05

ВВЕДЕНИЕ

Исследователи, синтезировавшие полимеры на основе полигидроксиалканоатов (ПГА), сообщают об их биосовместимости и легкой деградации в организме в сочетании с термопластичностью и высокой механической прочностью. В последние годы собрана обширная экспериментальная библиотека, показываю-

щая указанные ценные характеристики ПГА [1–6].

Полимеры этого класса не деградируют в водных средах и имеют очень низкую (месяцы и годы) кинетику биоразрушения. На фоне этого деградация ПГА в биологических жидкостях не приводит к изменению активных реакций среды [1], что позволяет применять ПГА в качестве носителя-скаффолда для живых клеток [5]. Такие

материалы могут использоваться в качестве матриксов для депонирования, адресной доставки и контролируемого высвобождения в течение длительного времени разнообразных лекарственных препаратов, пестицидов и т.п., в частности, некоторых противоопухолевых средств [7, 8]. ПГА можно применять как матрицы для доставки в ткани мультипотентных стромальных клеток (МСК) [9–12].

Проведены исследования с использованием световой микроскопии, окрашивания живых клеток трипановым синим, оценки синтеза ДНК и белка клетками в культуре и в ММТ-тесте определения клеточной и лекарственной цитотоксичности (способ, основанный на возможности дегидрогеназ митохондрий преобразовывать водорастворимый бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиума (МТТ) в формазан, кристаллизуемый внутри клеточных элементов. В процессе изучения цитотоксичности и биосовместимости ПГА матриксов на клеточных культурах разного происхождения – эндодермального (гепатоциты), мезенхимального (эндотелиоциты и фибробласты) и в первичной культуре остеобластов, полученных при культивировании МСК костномозгового происхождения, было обнаружено, что внешний вид клеточных элементов при непосредственном контакте с поверхностью ПГА в процессе культивирования не отличался от морфологии клеток, прикрепившихся к стеклу или полистиролу. Прямое взаимодействие с поверхностью полимера не ингибировало жизнеспособность клеточных элементов, не супрессировало синтез ДНК и митотическую способность. На основании этого было сделано заключение об отсутствии цитотоксичности полимеров из ПГА и значительной биосовместимости подобных материалов со всеми клеточными культурами. Также в процессе указанных исследований не обнаружено различий биологических эффектов между полигидроксибутиратом и сополимерных объектов из полигидроксибутирата/полигидроксибвалериата [13]. Ранее в процессе культивирования хондроцитов было отмечено, что смеси ПГА (полигидроксибутират-Со-гидроксибвалериат/полигидроксибутират), относительно монополигидроксибутирата, более оптимальны для клеточного культивирования [14].

Установлено, что ПГА способствуют пролиферации и дифференцированию МСК, в частности, в нейрональные клеточные элементы при повреждениях центральной нервной системы [15]. Кроме того, ПГА *in vitro* улучшают рост фибробластов [16]. Имеются отличия поверхностных свойств материалов, сделанных из разных видов ПГА, например, из поли-3-гидроксибутирата и поли-3-гидроксибутирата-Со-3-гидроксибвалериата, что, кроме всего прочего,

может воздействовать на уровень адгезии клеток к поверхности полимеров. Было сделано заключение, что биополимеры для тканевой инженерии могут обладать специфичностью для определенного типов клеточных элементов. Так, поли-3-гидроксибутират оптимален для культивирования клеток обонятельного тракта (обкладочные нейро-эпителиальные клетки), а поли-3-гидроксибутират-Со-3-гидроксибвалериат – для МСК [10].

На лабораторных животных при проведении острых и хронических экспериментов было установлено, что биоразрушение ПГА связано с его химической структурой, местом внедрения в организм и геометрической формой изделия. Дегградация идет медленно, и гуморальным, и клеточным путями, в основном с поверхности полимера, без формирования ограниченных дефектов и быстрого уменьшения прочностных характеристик. В разрушении полимера участвуют макрофаги и образующиеся из них гигантские клетки инородных тел со значительным уровнем кислой фосфатазы, коррелирующей с концентрацией энзима в сыворотке крови животных. Главной мишенью для частиц ПГА является ткань печени, затем – почек и селезенки. Максимально быстрая дегградация микрочастиц полимера идет в селезенке и печени. ПГА после синтеза можно использовать до 1 года, эти полимеры не вызывают некротических, воспалительных, склеротических или других нежелательных процессов в рядом расположенных тканях и *in vivo* не мешают репарации, что особенно важно для остеоимплантатов, эндопротезов, хирургических нитей и т.п. При этом дегградация структуры полимера начинает проявляться при длительности эксперимента 12 нед и более [17, 18]. В ходе экспериментального исследования репаративного остеогенеза было установлено, что имплантаты, сделанные на основе полигидроксибутирата, приобретают значительные остеопластические свойства [9].

Вместе с этим, несмотря на результаты по биосовместимости ПГА, представленные разработчиками полимера, нами ранее были опубликованы не менее многочисленные данные об отсутствии биодеградации изделий из этого материала [19–23].

Морфологическими и радиовизиографическими методами изучали процессы регенерации поврежденного участка кости нижней челюсти крыс после применения ПГА (сополимер из 85% полигидроксибутирата и 15% полигидроксибвалериата). На фоне использования полимера в течение всех 5 нед наблюдения сохранялось неизменным отверстие в кости, где находился ПГА. Признаков консолидации его с краем дефекта кости ни в одном случае не выявлено. Сам полимер был окружен фиброзной тканью с большим

числом клеточных элементов. Свидетельств деградации искусственного материала на всех сроках эксперимента не обнаружено [19].

Были исследованы процессы регенерации поврежденного хряща коленного сустава крыс после имплантации полигидроксибутирата/полигидроксиалериата. После применения ПГА деструктивные изменения в поврежденных суставах были выражены значительно сильнее, чем при естественном ходе заживления. Ни в одном случае на всех сроках наблюдения ПГА не был обнаружен между суставными поверхностями. Однако иногда ПГА лежал свободно в боковых складках суставной капсулы. Значительно чаще небольшие фрагменты ПГА располагались в мягких тканях вокруг сустава, были инкапсулированы активно пролиферирующей фиброзной тканью и деформированы. Во всех случаях не отмечено явлений макрофагальной и лейкоцитарной реакции на инородное тело и признаков развития гранулематозного воспалительного процесса. Кроме того, отсутствовали свидетельства деградации ПГА [20].

Морфологическими методами изучалась реакция организма крыс через различное время после имплантации материалов из полигидроксибутирата/полигидроксиалериата. Обнаружено, что после имплантации полимера в брюшную полость начинается активный спаечный процесс, приводящий к формированию фиброзных спаек между ПГА и петлями кишечника. Имплантированные пленки из ПГА под кожей и в мышечной ткани инкапсулируются толстой фиброзной капсулой. При имплантации ПГА в состоянии ультратонких волокон во всех тканях образуются гранулемы инородного тела с перифокальным воспалением и склерозом окружающих тканей. В этих гранулемах происходят фрагментирование полимера и фагоцитоз макрофагами с формированием гигантских клеток инородных тел. Сделано заключение, что материалы из ПГА после имплантации в организм вызывают активную и выраженную хроническую гранулематозную воспалительную реакцию и очень медленно разрушаются макрофагами [21–23].

В связи с описанной нами ранее активной воспалительной реакцией, индуцированной присутствием ПГА в организме [21–23], и иммуномодуляторным эффектом клеточной терапии [24–28], которая может ингибировать и даже супрессировать острую [26–28] и хроническую [24, 25, 28] воспалительную реакцию, была определена цель исследования: изучить результаты влияния аутологичных мезенхимальных МСК костномозгового происхождения (АММСККП), адсорбированных на ПГА, на воспалительный процесс, сопровождающий имплантацию этого полимера в эксперименте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве модели были использованы самцы крыс инбредной линии Wag массой тела 180–200 г. Возраст животных – 6 мес. Крысы получены из вивария Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск), содержание животных и работу с ними проводили на базе данного вивария.

ПГА (сополимер гидроксипроизводных алкановых кислот, состоящий на 85% из полигидроксибутирата и 15% – из гидроксиалериата) в виде ультратонких волокон (авторское название) диаметром 20 мкм был предоставлен для исследования Институтом биофизики СО РАН (г. Красноярск). Фрагменты ПГА размером 1 × 1 см стерилизовали замоченными в забуференном физиологическом растворе для культур клеток в автоклаве при температуре 120 °С, давлении в 1 атмосферу в течение 20 мин.

АММСККП получали и культивировали в соответствии с нашими прошлыми работами [29, 30]. Стерильный фрагмент ПГА погружали в суспензию АММСККП на 2 ч для пассивной адсорбции, в связи с тем, что живые клетки, как и клетки перевиваемых клеточных культур, прикрепляются к любому твердому субстрату [31–33].

Область лопатки была выбрана вследствие того, что здесь имеется достаточно выраженная подкожная клетчатка, к которой возможен относительно легкий доступ. Кроме того, впоследствии животное не сможет преждевременно избавиться от швов. Под общим ингаляционным эфирным наркозом, в условиях чистой операционной, при соблюдении правил асептики и антисептики, после обработки кожи спиртом, скальпелем с одноразовым сменным лезвием производили разрез кожи длиной 1,5–2 см на спине животного между лопатками. Тупым способом (сомкнутым зажимом) формировали слепой канал длиной 1,5–2 см над правой лопаткой. В данный канал помещали ПГА, затем ушивали рану непрерывными викриловыми швами и снова обрабатывали кожу спиртом. Воспалительных осложнений в месте послеоперационных швов не обнаружено. В качестве контроля использовали животных с имплантацией ПГА без адсорбции АММСККП. В каждой группе было 12 крыс. Животных выводили из эксперимента через 1, 2, 3 и 4 нед после имплантации. На каждую дату наблюдения отводили по 12 крыс опытной и контрольной групп. Всего использовано 96 крыс.

Биоптированный ПГА вместе с окружающими тканями фиксировали в 4%-м растворе параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,4) не менее 24 ч, обезвоживали в градиенте этанола возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в гистопласт. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм изучали

при увеличении светового микроскопа Axio-imager M1 (Karl Zeiss, Германия) до 1200 раз.

Для исследования структурной организации тканей вокруг ПГА проводили измерения изображений, полученных при помощи цифровой видеокамеры микроскопа, на экране компьютера с использованием программного обеспечения морфологического модуля Axiovision (Karl Zeiss, Германия). При использовании объектива с увеличением $\times 10$ конечная площадь тестового прямоугольника была равна $1\,400\,000\text{ мкм}^2$ (стороны $1400 \times 1000\text{ мкм}$). С каждого среза проводили 3–5 измерений, с учетом рекомендаций, что для рандомизированного исследования достаточно трех срезов [34]. Дифференцирование кровеносных и лимфатических сосудов осуществляли в соответствии с данными J.R. Head, L.L. Seeling [34].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью прикладной статистической программы MS Excel 7.0 (Microsoft, США), получали среднее арифметическое значение M и стандартное отклонение s . Статистическую значимость различий сравниваемых средних величин определяли на основании критерия Стьюдента. Статистически значимым считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем доверительной вероятности 95% и выше. При расчетах учитывали, что распределение исследуемых признаков было близким к нормальному.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во все сроки после имплантации ПГА в состоянии ультратонких волокон, полимер был расположен в тканях в месте операции и инкапсулирован тонкой прозрачной полоской ткани. В течение 1–2 нед ПГА в практически неизменном виде очень легко извлекался из окружающих тканей, а последующие сроки материал был более прочно связан с ними (рис. 1).

При попытке пассивной адсорбции АММСККП на ПГА имелись сомнения в результативности указанной процедуры. Несмотря на данные литературы, что культивируемые клетки из взвеси прикрепляются к любому твердому субстрату [31–33], а МСК очень хорошо взаимодействуют с ПГА [9–13, 15], в этом эксперименте создалось впечатление об отсутствии прикрепления АММСККП при пассивном сокультивировании с ПГА к его поверхности или крайне слабой адгезии к ней. При извлечении полимера из взвеси перед имплантацией клетки просто стекали по его поверхности вместе с культуральной средой. Но так как существует вероятность прикрепления отдельных клеточных элементов [9–16] или даже детрита с микросомальными фракциями

АММСККП к ПГА, было принято решение о проведении данного эксперимента.

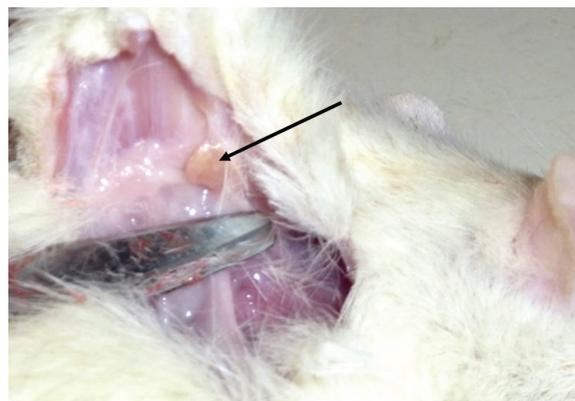


Рис. 1. Результаты имплантации ПГА в подкожную клетчатку крысы: макропрепарат. Через 1 нед после операции ПГА расположен в месте имплантации и окружен тонким слоем соединительной ткани (стрелка)

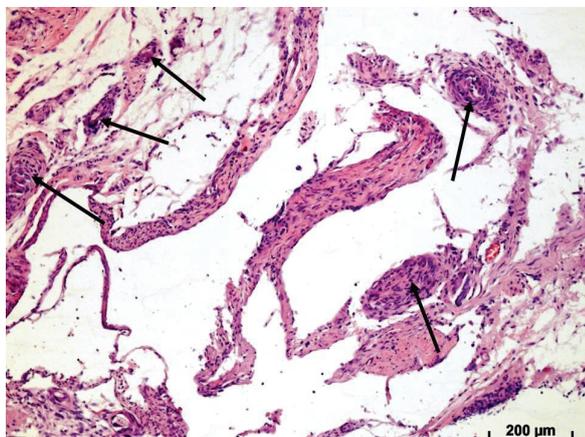
Fig. 1. Results of PNA implantation into rat subcutaneous tissue: gross specimen. One week after the implantation, PNA is located at the implantation site and surrounded by a thin layer of connective tissue (arrow)

Только в течение первых 2 нед вокруг ПГА можно было обнаружить некое подобие обрывков капсулы из плотной волокнистой соединительной ткани с высоким содержанием лейкоцитов и эритроцитов (рис. 2, а, б). На отдельных участках препаратов визуализировалось большое количество нейтрофилов и грануляционных сосудов, и структуры рыхлой волокнистой или неоформленной соединительной ткани вокруг ПГА напоминали капсулу, формирующуюся вокруг абсцессов. Все перечисленное свидетельствует об очень высокой активности острого воспалительного процесса, значительной чужеродности имплантируемого материала или приобретении антигенных свойств собственными тканями организма при контакте с ПГА. Активность воспаления вокруг полимера не зависела от попытки адсорбции АММСККП на ПГА.

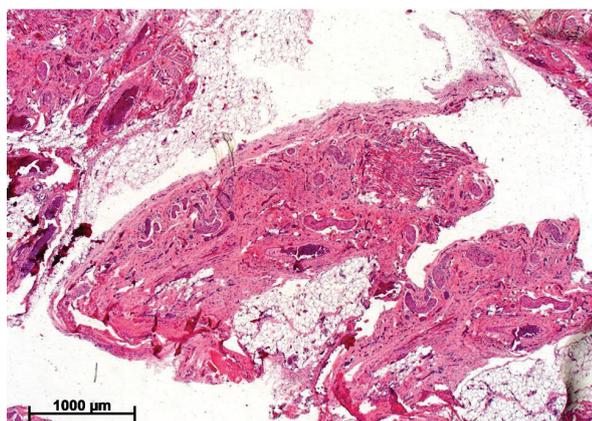
Практически во всех наблюдениях, даже спустя 1 нед после операции, непосредственно между волокнами ПГА и в тканях рядом с полимером присутствовали гигантские клетки инородных тел. Частота обнаружения и размеры слившихся многоядерных макрофагов также не зависели от предварительного контакта полимера с АММСККП.

Начиная с 3-й нед интенсивность воспаления несколько снижалась, воспалительная реакция сосредоточена в основном вокруг имплантированных волокон ПГА. Однако капсула вокруг имплантированного полимера так и не была сформирована. Весь полимер с окружающими

тканями представлял собой обширную гранулему, расположенную в подкожно-жировой клетчатке. В подобных гранулемах была очень высокой лейкоцитарная инфильтрация, причем в цитограмме лейкоцитов даже на 3–4-й нед преобладали нейтрофилы и лимфоциты (рис. 3, а, б, 4).



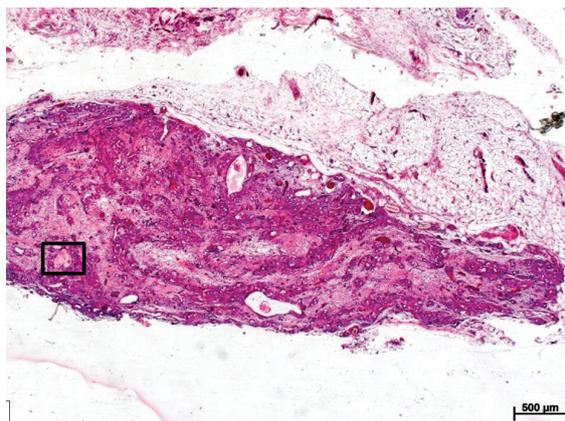
а



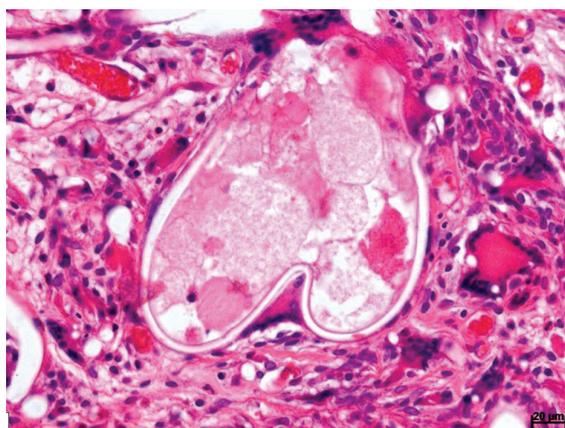
б

Рис. 2. Результаты имплантации ПГА в подкожную клетчатку крысы: а – через 1 нед после имплантации ПГА без АММСККП в подкожной клетчатке расположены фрагменты капсулы из плотной волокнистой соединительной ткани с гранулемами (стрелки), формирующимися вокруг волокон полимера, глубже расположены мышечные волокна; б – обширные гранулемы формируются в подкожной клетчатке на 1-й нед после внедрения ПГА с адсорбированными АММСККП. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 2. Results of PHA implantation into rat subcutaneous tissue: а – one week after the implantation of PHA without AMSCBMO, fragments of a capsule of dense connective tissue with granulomas (arrows) formed around polymer fibers are located in subcutaneous tissue, muscle fibers are located in depth; б – vast granulomas are formed in subcutaneous tissue in the first week after implantation of PHA with adsorbed AMSCBMO. Hematoxylin-eosin staining



а



б

Рис. 3. Результаты имплантации ПГА в подкожную клетчатку крысы: а – через 4 нед после имплантации ПГА без АММСККП в подкожно-жировой клетчатке расположена гранулема без капсулы; б – фрагмент рис. 3, а. Крупная псевдокиста образована согнутым в полное кольцо волоком ПГА и содержит внутри фибрин различной плотности, рядом расположены многочисленные нити полимера и гигантские клетки инородных тел. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 3. Results of PHA implantation into rat subcutaneous tissue: а – four weeks after implantation of PHA without AMSCBMO, a granuloma without a capsule is located in subcutaneous tissue; б – fragment of Fig. 3, а. A large pseudocyst is formed by a PHA fiber bent into a hollow ring and contains fibrin of different density, numerous polymer fibers and giant cells of foreign bodies are located nearby. Hematoxylin-eosin staining

Также обращало на себя внимание большое число гигантских клеток инородных тел, как расположенных вне нитей полимера, так и полностью окутывающих отдельные волокна, достигающих в диаметре 20 мкм. Иногда на поперечном срезе целая нить ПГА была полностью окружена одной крупной гигантской клеткой. Кроме того, в структурах гранулем были расположены многоядерные макрофаги со слившейся

цитоплазмой без фрагментов ПГА внутри, но по диаметру соответствующие нитям полимера (рис. 3, б). В некоторых случаях возле таких многоядерных клеток (или непосредственно в их цитоплазме) содержались очень мелкие частицы ПГА. В связи с этим можно сделать предположение, что подобные слившиеся макрофаги присутствуют на месте волокон, к моменту исследования уже полностью лизированных.

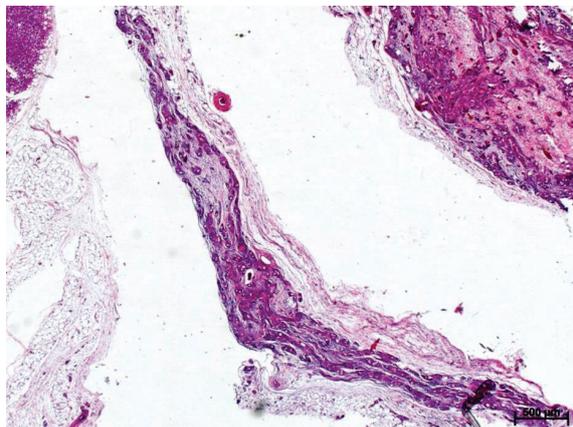


Рис. 4. Результаты имплантации ПГА в подкожную клетчатку крысы: на 4-й нед имплантированный ПГА с адсорбированными АММСККП расположен в грануле. Капсулы нет, гранулема непосредственно граничит со склерозированной клетчаткой. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 4. Results of PHA implantation into rat subcutaneous tissue: in the fourth week, implanted PHA with adsorbed AMMSCBP is located in granuloma. Capsule is absent, granuloma joins sclerotized fiber. Hematoxylin-eosin staining

Необходимо отдельно обратить внимание на кольцеобразную фигуру диаметром 100–150 мкм, образованную согнутым волокном полимера (см. рис. 3). В гранулемах с имплантированным материалом были расположены своеобразные псевдокисты (без эпителиальной выстилки), образованные при изгибании полимерных волокон в полное кольцо: оболочки псевдокист всегда включали нити ПГА. В указанные сроки наблюдения внутри этих псевдокист содержался только фибрин разной плотности. Считается, что способные к сокращению клеточные элементы соединительной ткани – миофибробласты при имплантации инородного тела содержатся в основном в капсуле из плотной волокнистой соединительной ткани, окружающей внедренный объект [35–37]. Миофибробласты принимают участие в минимизации объема, занятого инородным телом, уменьшении его размеров, фрагментации и элиминации по ходу раневого канала или перемещении по пути наименьшего механического сопротивления.

Несмотря на отсутствие капсулы вокруг ПГА, в этом наблюдении также обнаружено сгибание и, вероятно, в дальнейшем переламывание, измельчение волокон полимера. Несомненно, что миофибробласты присутствуют и непосредственно в гранулемах: в рыхлой волокнистой и неоформленной соединительной ткани, окружающей волокна ПГА и в значительной мере инфильтрированной лейкоцитами, содержащей многочисленные сосуды грануляций и многоядерные макрофаги со слившейся цитоплазмой. В результате сократительной деятельности миофибробластов волокна полимера сгибаются вплоть до формирования полных кольцевых фигур. Скорее всего, при дальнейшей деформации возможно переламывание таких волокон.

Обнаружение описанных кольцеобразных структур, образованных из изогнутых нитей ПГА в тканях, служит доказательством отсутствия полной интеграции этого полимера в организме, процессы деформации с последующей фрагментацией инородного объекта достаточно активны и через 4 нед после имплантации.

Таким образом, происходит измельчение крупных инородных тел до такого состояния, что они могут быть фагоцитированы клетками макрофагального ряда. Кроме того, измельчение объекта увеличивает площадь его поверхности, что ускоряет его гидролитическую деградацию или разрушение под воздействием лизосомальных ферментов фагоцитов, выбрасываемых из клеток наружу [38] для лизиса крупных чужеродных объектов.

Можно заключить, что гистологическая картина практически не отличалась от наших ранее опубликованных результатов, на основании которых сделан вывод о длительной воспалительной реакции, отсутствии быстрой деградации и полной бионесовместимости изделий из ПГА с организмом [19–23]. Вместе с тем, представленные здесь данные противоречат результатам, показывающим биосовместимость, отсутствие воспалительных и некротических изменений в месте внедрения полимера в организм, а также хорошую адгезию культивируемых клеток, в том числе МСК, к ПГА [1–18].

С использованием морфометрии и статистической обработкой полученных данных были исследованы показатели васкуляризации и точной инфильтрации непосредственно в гранулемах, среди ультратонких волокон.

Процент площади среза гранулемы, занимаемый кровеносными сосудами, на 3-й и 4-й нед после имплантации ПГА без АММСККП сократился относительно данных на 1-й нед на 69,2 и 83,7% соответственно (табл. 1).

Объемная плотность лимфатических сосудов на 4-й нед после имплантации полимера без

адсорбированных АММСККП стала меньше на 56,1% по сравнению с состоянием на 1-й нед (табл. 1).

Любое повреждение тканей с последующим острым или хроническим, гнойным или асептическим воспалением приводит к изменениям тока крови и лимфы в заинтересованных тканях из-за тромбоза, блокады сосудистого русла детритом или даже прямой деструкции сосудистых оболочек. Это предохраняет организм от диссеминации инфекции и других антигенов из места травмы и воспаления посредством сосудистого русла.

По мере репарации тканей, как минимум, операционного разреза, и уменьшения антигенного воздействия, сосудистые нарушения постепенно восстанавливаются. Однако, так как выраженная воспалительная реакция, имеющая острый характер и поддерживаемая ПГА, сохраняется в течение всего времени наблюдения, объем сосудистого русла сокращается медленно и незначительно, и остается высоким даже по истечении 4 нед эксперимента.

Процент площади среза, занимаемый кровеносными сосудами, на 3-й и 4-й нед после имплан-

тации ПГА с адсорбированными АММСККП был меньше на 85,4 и 87,7% соответственно, по сравнению с состоянием на 1-й нед (табл. 2).

Объемная плотность лимфатических сосудов на 4-й нед после имплантации полимера с АММСККП сократилась на 69,3% относительно данных на 1-й нед (табл. 2).

Статистически значимых различий в состоянии васкуляризации гранулемы, обусловленных использованием АММСККП, адсорбированных на ПГА, на каждом сроке после имплантации не обнаружено (табл. 1, 2).

На основании иммуномодуляторного действия МСК [24–28] мы ожидали более быстрое уменьшение объема сосудистого русла гранулемы. Но, во-первых, не было зафиксировано адсорбции АММСККП на полимере. Во-вторых, если ожидаемый иммуномодуляторный эффект и был, он быстро нивелировался очень выраженной воспалительной реакцией. В-третьих, иммуномодуляторное влияние АММСККП в данном случае могло быть просто замаскировано сопутствующим активным гранулематозным воспалением.

Таблица 1. Структурная организация гранулемы вокруг ПГА в виде ультратонких волокон, имплантированных без АММСККП ($M \pm \sigma$)

Table 1. Structural organization of granuloma around PHA in the form of ultrathin fibers implanted without AMSCBMO ($M \pm \sigma$)

Параметр	Срок после имплантации			
	1 нед	2 нед	3 нед	4 нед
Кровеносные капилляры (A_A)	12,40 ± 1,98	8,83 ± 1,70	7,33 ± 1,50*	6,75 ± 1,66*
Лимфатические капилляры (A_A)	14,70 ± 1,97	12,80 ± 1,70	11,8 ± 1,82	9,42 ± 1,51*
Интерстициальные пространства (A_A)	5,58 ± 1,08	4,75 ± 0,622	3,58 ± 1,24	3,08 ± 1,31
Численная плотность всех клеточных элементов (N_A)	942 ± 108	717 ± 119	733 ± 107	758 ± 116
Гигантские клетки инородных тел, %	2,25 ± 0,87	2,67 ± 0,99	2,75 ± 0,87	4,83 ± 0,72*

Примечание. Здесь и в табл. 2: A_A – относительная площадь структур на срезе, (%); N_A – численная плотность клеток на 10^5 $\mu\text{м}^2$ площади среза; * – $p \leq 0,05$ – по сравнению с показателями на 1-й нед.

Таблица 2. Структурная организация гранулемы вокруг ПГА в виде ультратонких волокон, имплантированных с применением АММСККП ($M \pm \sigma$)

Table 2. Structural organization of granuloma around PHA in the form of ultrathin fibers implanted with AMSCBMO ($M \pm \sigma$)

Параметр	Срок после имплантации			
	1 нед	2 нед	3 нед	4 нед
Кровеносные капилляры (A_A)	12,20 ± 2,33	9,33 ± 1,83	6,58 ± 1,51	6,50 ± 1,57
Лимфатические капилляры (A_A)	15,10 ± 1,56	11,9 ± 2,15	11,80 ± 1,64	8,92 ± 1,16
Интерстициальные пространства (A_A)	4,67 ± 1,78	4,92 ± 0,67	3,67 ± 0,98	3,33 ± 0,89
Численная плотность всех клеточных элементов (N_A)	950 ± 117	783 ± 93	750 ± 109	708 ± 108
Гигантские клетки инородных тел, %	2,33 ± 0,89	2,50 ± 0,91	2,83 ± 0,84	4,92 ± 0,79

Гранулема, образованная вокруг ПГА в состоянии ультратонких волокон, независимо от адсорбции АММСККП на этом полимере, характеризуется высоким уровнем клеточной инфильтрации на всех сроках наблюдения. Это, наиболее вероятно, указывает на постоянно высокую активность воспалительного процесса, вызванного не только хирургическим вмешательством, но и, главным образом, присутствием самого ПГА в организме (табл. 1, 2, рис. 2–4).

Относительное содержание гигантских клеток инородных тел среди других клеточных элементов к 4-й нед после имплантации ПГА без применения клеточных технологий и на фоне внедрения полимера с адсорбированными АММСККП увеличилось в 2,1 раза по сравнению с состоянием на 1-й нед (табл. 1, 2, рис. 3, б).

Такое нарастание численности многоядерных макрофагов со слившейся цитоплазмой по мере увеличения времени после операции, скорее всего, свидетельствует о выраженной макрофагальной реакции на ПГА и очень медленном макрофагальном лизисе или даже о невозможности такового, об отсутствии деградации этого полимера и отсутствии его биосовместимости. Вместо утихания острого воспаления, деградации инородного тела или его инкапсуляции, отграничения от организма соединительной тканью, происходит нарастание макрофагальной инфильтрации тканей и прогрессивное формирование гигантских клеток инородных тел. Не исключено, что ПГА стимулирует именно макрофагальные реакции, отсюда происходят и очень активный гранулематозный воспалительный процесс, и формирование гранулем, и быстрое, уже в течение 1-й нед, образование большого числа гигантских клеток инородных тел.

Других отличий клеточной инфильтрации, как между разными сроками послеоперационного периода, так и между результатами имплантации без АММСККП и с таковыми найдено не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, согласно литературным данным, ПГА должны способствовать пролиферации

и дифференцированию МСК. На лабораторных животных при проведении острых и хронических экспериментов было обнаружено, что деградация полимера идет медленно, без формирования ограниченных дефектов и быстрого уменьшения прочностных характеристик. Полимеры на основе ПГА не вызывают некротических, воспалительных, склеротических или других нежелательных процессов в рядом расположенных тканях и *in vivo* не мешают репарации, что особенно важно для остеоимплантатов, эндопротезов, хирургических нитей и т.п. Однако в данном эксперименте не найдено адгезии АММСККП к поверхности полимера в состоянии ультратонких волокон при пассивной адсорбции. Были обнаружены обширные гранулемы инородных тел, формирующиеся вокруг ПГА, значительные воспалительные и некротические изменения тканей в этих гранулемах.

Таким образом, полученная гистологическая картина полностью противоречит результатам производителей ПГА и исследователей, показывающим биосовместимость, отсутствие воспалительных и некротических изменений в месте внедрения полимера в организм, а также хорошую адгезию к нему культивируемых клеток, в том числе МСК.

Различий, обусловленных адсорбцией АММСККП на ПГА, в состоянии васкуляризации гранулемы, сформированной вокруг волокон полимера, на каждом сроке после имплантации отмечено не было. После внедрения полимера без АММСККП и с адсорбированными АММСККП происходило постепенное уменьшение объемной плотности сосудистого русла. В клеточном составе гранулемы можно отметить раннее появление и быстрое нарастание относительного содержания гигантских клеток инородных тел, что также не зависело от применения клеточных технологий. По-видимому, если изменения, вызванные адсорбцией АММСККП, все-таки и были, они или маскировались, или очень быстро нивелировались выраженной воспалительной реакцией, вызванной присутствием полимера на основе ПГА в тканях.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Amass W., Amass A., Tighe B.A. Review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. *Polym. Int.* 1998;47:89-144.
2. Sudesh K. Microbial polyhydroxyalkanoates (PHAs): an emerging biomaterial for tissue engineering and therapeutic applications. *Med. J. Malaysia.* 2004;59:55-66.
3. Волова Т.Г., Гладышев М.И., Трусова М.Ю., Жила И.О., Картушинская М.В. Деградация биопластиков в природной среде. *Доклады Академии наук.* 2004;397(5):703-710. [Volova T.G., Gladyshev M.I., Trusova M.Yu., Zhila N.O., Kartushinskaya M.V. Degradaciya bioplastikov v prirodnoy srede [Degradation of bioplastics in natural environment]. *Doklady Akademii nauk.* 2004;397(5):703-710 (in Russ.).]

4. Coskun S., Korkusuz F., Hasirci V. Hydroxyapatite reinforced poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) based degradable composite bone plate. *J. Biomat. Sci. Polymer Ed.* 2005;16:1485-502.
5. Шишацкая Е.И. Клеточные матриксы из резорбируемых полигидроксиалканоатов. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2007;2(2):68-75. [Shishatskaya E.I. Kletochnye matriksy iz rezorbiruemykh poligidroksialkanoatov [Cellular matrix of resorbable polyhydroxyalkanoates]. *Kletochnaya transplantologiya i tkanyedaya inzheneriya – Cell. Transpl. and Tiss. Eng.* 2007;2(2):68-75 (in Russ.)].
6. Shishatskaya E.I., Voinova O.N., Goreva A.V., Mogilnaya O.A., Volova T.G. Biocompatibility of polyhydroxybutyrate microspheres: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2008;19(6):2493-502. doi: 10.1007/s10856-007-3345-6.
7. Шишацкая Е.И., Горева А.В., Войнова О.Н., Инжеваткин Е.В., Хлебоброс Р.Г., Волова Т.Г. Оценка противоопухолевой эффективности рубомицина, депонированного в резорбируемые полимерные микрочастицы. *Бюл. эксп. биол. мед.* 2008;145(3):333-6. [Shishatskaya E.I., Goreva A.V., Voinova O.N., Inzhevatin E.V., Khlebopros R.G., Volova T.G. Ocenka protivopuholevoy effektivnosti rubomitsina, deponirovannogo v rezorbiruemye polymernye mikrochastitsy [Evaluation of antitumor activity of rubomycin deposited in absorbable polymeric microparticles]. *Bull Exp Biol Med.* 2008 Mar;145(3):358-61 (in Russ.)].
8. Войнова О.Н., Калачева Г.С., Гродницкая И.Д., Волова Т.Г. Микробные полимеры в качестве разрушаемой основы для доставки пестицидов. *Прикладная биохимия и микробиология.* 2009;45(4):427-31 [Voinova O.N., Kalacheva G.S., Grodnitskaya I.D., Volova T.G. Microbnye polimery v kachestve razrushayemy osnovy dlya dostavki polimerov [Microbial polymers as a degradable carrier for pesticide delivery]. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya.* 2009;45(4):427-31].
9. Шишацкая Е.И., Камендов И.В., Старосветский С.И., Волова Т.Г. Исследование остеопластических свойств матриксов из резорбируемого полиэфира гидроксимасляной кислоты. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2008;3(4): 41-47 [Shishatskaya E.I., Kamendov I.V., Starosvetky S.I., Volova T.G. Issledovanie osteoplasticheskikh svoystv matriksov iz rezorbiruемого poliefira gidroksimaslyanoy kisloty [Research of osteoplastic properties of matrixes from resolving polyether of hydroxiol acid]. *Kletochnaya transplantologiya i tkanyedaya inzheneriya – Cell Transpl. and Tiss. Eng.* 2008;3(4): 41-47 (in Russ.)].
10. Ahmed T., Maral H., Lawless M., Wanandy N.S., Chiu A., Foster L.J. Polyhydroxybutyrate and its Copolymer with Polyhydroxyvalerate as Biomaterials: Influence on Progression of Stem Cell Cycle. *Biomacromolecules.* 2010;11(10):2707-15. doi: 10.1021/bm1007579.
11. Ke Y., Wang Y., Ren L. Surface modification of PHBV scaffolds via UV polymerization to improve hydrophilicity. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2010;21(12):1589-602. doi: 10.1163/092050609X12520505439788.
12. Wang L., Wang Z.H., Shen C.Y., You M.L., Xiao J.F., Chen G.Q. Differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells grown in terpolyesters of 3-hydroxyalkanoates scaffolds into nerve cells. *Biomaterials.* 2010;31(7):1691-8. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.11.053.
13. Шишацкая Е.И., Волова Т.Г., Гордеев С.А., Пузырь А.П. Биодegradация шовных нитей на основе полиоксисалканоатов в биологических средах. *Перспективные материалы.* 2002;(2):56-62. [Shishatskaya E.I., Volova T.G., Gordeev S.A., Puzyr A.P. Biodegradaciya shovnyh nitej na osnove polioksialkanoatov v biologicheskikh sredah [Biodegradation of suture filaments based on polyoxyalkanoates in biological media]. *Perspektivnye materialy – Perspective materials.* 2002;(2):56-62 (in Russ.)].
14. Deng Y., Zhao K., Zhang X.F., Hu P., Chen G.Q. Study on the three-dimensional proliferation of rabbit articular cartilage-derived chondrocytes on polyhydroxyalkanoate scaffolds. *Biomaterials.* 2002 Oct;23(20):4049-56.
15. Xu X.Y., Li X.T., Peng S.W., Xiao J.F., Liu C., Fang G., Chen K.C., Chen G.Q. The behaviour of neural stem cells on polyhydroxyalkanoate nanofiber scaffolds. *Biomaterials.* 2010;31(14):3967-75. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.132.
16. Dong Y., Li P., Chen C.B., Wang Z.H., Ma P., Chen G.Q. The improvement of fibroblast growth on hydrophobic biopolyesters by coating with polyhydroxyalkanoate granule binding protein *PhaP fused with cell adhesion motif RGD.* *Biomaterials.* 2010;31(34):8921-30. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.08.001.
17. Шишацкая Е.И., Волова Т.Г., Маркелова Н.М., Винник Ю.С., Черданцев Д.В., Гавриленко Е.С., Кузнецов М.Н., Белецкий И.И., Зыкова Л.Д. Первые результаты применения биодegradируемого шовного материала на основе линейного полиэфира 3-гидроксимасляной кислоты. *Успехи современного естествознания.* 2008;(9):106-9. [Shishatskaya E.I., Volova T.G., Markelova N.M., Vinnik Yu.S., Cherdantsev D.V., Gavrilenko E.S., Kuznetsov M.N., Beletsky I.I., Zyкова L.D. Pervye rezul'taty primeneniya biodegradiruемого shovnogo materiala na osnove lineinogo poliefira 3-gidroksimaslyanoy kisloty [The first results of the use of biodegradable suture material based on linear polyester 3-hydroxybutyric acid]. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya – Advances in current natural sciences.* 2008;(9):106-9 (in Russ.)].
18. Шишацкая Е.И., Горева А.В., Войнова О.Н., Калачева Г.С., Волова Т.Г. Распределение и резорбция полимерных микрочастиц в тканях внутренних органов лабораторных животных при внутривенном введении.

- Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2009;148(11):542-6. doi: 10.1007/s10517-010-0817-3 [Shishatskaya E.I., Goreva A.V., Voinova O.N., Kalacheva G.S., Volova T.G. Raspredeleniye i rezorbciya polimernykh mikrochastits v tkanyah vnutrennih organov laboratornykh zhivotnykh pri vnutrivennom vvedenii [Distribution and resorption of polymeric microparticles in visceral organs of laboratory animals after intravenous injection]. *Bulleten Experimentalnoy Biologii i Mediciny – Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2009;148(5):789–793. doi: 10.1007/s10517-010-0817-3 (in Russ.)].
19. Майбородин И.В., Шевела А.И., Шеплев Б.В., Колесников И.С., Матвеева В.А., Дровосеков М.Н., Шевела А.А., Козодий Д.М., Выборнов М.С. Применение биодеградируемых полигидроксиалканоатов после повреждения кости нижней челюсти в эксперименте. *Клиническая стоматология*. 2010;(4):54-7. [Maiborodin I.V., Shevela A.I., Sheplev B.V., Kolesnikov I.S., Matveeva V.A., Drovosekov M.N., Shevela A.A., Kozodiy D.M., Vybornov M.S. Primeneniye biodegradiruemyyh poligidroksialkanoatov posle povrezhdeniya kosti nizhney chelyusti v eksperimente [Application of biodegradable polyhydroxyalkanoates after injury to the mandible bone in the experiment]. *Klinicheskaya stomatologiya – Clinical Dentistry*. 2010;(4):54-7 (in Russ.)].
 20. Майбородин И.В., Шевела А.И., Береговой Е.А., Матвеева В.А., Ангельский А.А., Дровосеков М.Н. Внутрисуставная имплантация материалов из биодеградируемых полигидроксиалканоатов в эксперименте. *Травматология и ортопедия России*. 2011;59(1):67-75. [Maiborodin I.V., Shevela A.I., Beregovoy E.A., Matveeva V.A., Angelskiy A.A., Drovosekov M.N. Vnutrisustavnaya implantatsiya materialov iz biodegradiruemyyh poligidroksialkanoatov v eksperimente [Intra-articular implantation of materials from biodegradable polyhydroxyalkanoates in the experiment]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii – Traumatology and orthopedics of Russia*. 2011;59(1):67-75 (in Russ.)].
 21. Майбородин И.В., Шевела А.И., Анищенко В.В., Матвеева В.А., Шевела А.А., Дровосеков М.Н., Власов В.В. Особенности реакции тканей крыс на внутрибрюшинные имплантаты из биодеградируемого полигидроксиалканоата. *Морфология*. 2011;139(2):62-6. [Maiborodin I.V., Shevela A.I., Anishchenko V.V., Matveeva V.A., Shevela A.A., Drovosekov M.N., Vlasov V.V. Osobennosti reakcii tkaney kryss na vnutribryushinnye implantaty iz biodegradiruemogo polygidroksialkanoata [The peculiarities of rat tissue reactions to intraperitoneal implants made out of biodegradable polyhydroxyalkanoates]. *Morfologiya – Morphology*. 2011;139(2):62-6 (in Russ.)].
 22. Майбородин И.В., Шевела А.И., Матвеева В.А. и др. Морфологические изменения тканей после имплантации упругих пластинчатых инородных тел в эксперименте. *Морфология*. 2012;141(2):54-60. [Maiborodin I.V., Shevela A.I., Matveeva V.A., Drovosekov M.N., Barannik M.I., Kuznetsova I.V. Morphologicheskie izmeneniya tkaney posle implantatsii uprugih plastinchatykh inородnykh tel v eksperimente [Morphological tissue changes after the implantation of elastic lamellar foreign bodies in the experiment]. *Morfologiya – Morphology*. 2012;141(2):54-60 (in Russ.)].
 23. Майбородин И.В., Шевела А.И., Морозов В.В., Новикова Я.В., Матвеева В.А., Дровосеков М.Н., Баранник М.И. Реакция тканей крыс на имплантацию полигидроксиалканоата в состоянии пленок и ультратонких волокон. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012;154(9):365-70. [Maiborodin I.V., Shevela A.I., Morozov V.V., Novikova Ya.V., Matveeva V.A., Drovosekov M.N., Barannik M.I. Reakciya tkaney kryss na implantatsiyu poligidroksialkanoata v sostoyanii plynok b ultratonkih volokon [Reaction of the rat tissues to implantation of polyhydroxyalkanoate films and ultrafine fibers]. *Bulleten experimentalnoy biologii i Mediciny – Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2013;154(3)379-84 (in Russ.)].
 24. Carty F., Mahon B.P., English K. The influence of macrophages on mesenchymal stromal cell therapy: passive or aggressive agents? *Clin. Exp. Immunol.* 2017;188(1):1-11. doi: 10.1111/cei.12929.
 25. Conklin L.S., Hanley P.J., Galipeau J., Barrett J., Bollard C.M. Intravenous mesenchymal stromal cell therapy for inflammatory bowel disease: Lessons from the acute graft versus host disease experience. *Cytotherapy*. 2017;19(6):655-67. doi: 10.1016/j.jcyt.2017.03.006.
 26. Qiu G., Zheng G., Ge M., Huang L., Tong H., Chen P. et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells modulate CD14(++)CD16(+) expression on monocytes from sepsis patients in vitro via prostaglandin E2. *Stem Cell. Res. Ther.* 2017;8(1):97. doi: 10.1186/s13287-017-0546-x.
 27. Shree N., Venkategowda S., Venkatranganma M.V., Bhonde R.R. Treatment with adipose derived mesenchymal stem cells and their conditioned media reverse carrageenan induced paw oedema in db/db mice. *Biomed. Pharmacother.* 2017;90:350-3. doi: 10.1016/j.biopha.2017.03.090.
 28. Takeyama H., Mizushima T., Uemura M., Haraguchi N., Nishimura J., Hata T. et al. Adipose-derived stem cells ameliorate experimental murine colitis via tsp-1-dependent activation of latent TGF- β . *Dig. Dis. Sci.* 2017;62(8):1963-74 doi: 10.1007/s10620-017-4578-y.
 29. Майбородин И.В., Морозов В.В., Анিকেев А.А., Фигуренко Н.Ф., Маслов Р.В., Частикин Г.А., Матвеева В.А., Майбородина В.И. Макрофагальный ответ у крыс на введение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в регион хирургической травмы. *Новости хирургии*. 2017;25(3):233-241. [Maiborodin I.V., Morozov V.V., Anikeev A.A., Figurenko N.F., Maslov R.V., Chastikin G.A., Matveeva V.A., Maiborodina V.I. Makrofagalnyi otvet u kryss na vvedeniye multipotentnykh mezenhimalnykh stromalnykh kletok v region hirur-

- gicheskoj travmy [Macrophage reaction to multipotent mesenchymal stromal cells introduction into surgical trauma site in rats]. *Novosti Khirurgii – News of the Surgery*. 2017;25(3):233-241 (in Russ.)]
30. Майбородин И.В., Маслов Р.В., Михеева Т.В., Еловский А.А., Фигуренко Н.Ф., Майбородина В.И., Шевела А.И., Анищенко В.В. Макрофагальная адсорбция мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток как доказательство их миграции по сосудам после тканевой инъекции. *Молекулярная медицина*. 2018;16(4):56–61 [Maiborodin I.V., Maslov R.V., Mikheeva T.V., Elovskiy A.A., Figurenko N.F., Maiborodina V.I., Shevela A.I., Anishchenko V.V. Macrophagal adsorption of multipotent mesenchymal stromal cells and their debris from vascular bed proves the migration of these cellular elements through the vessels after tissue injection. *Molekulyarnaya meditsina*. 2018;16(3):56–61 (in Russ.)] <https://doi.org/10.29296/24999490-2018-04-10>.
 31. Крымский Л.Д., Нестайко Г.В., Рыбалов А.В. *Растровая электронная микроскопия сосудов и крови*. М.: Медицина, 1976. 168 с. [Krymskiy L.D., Nestayko G.V., Rybalov A.V. *Rastrovaya elektronnaya mikroskopiya sosudov i krovi* [Raster electron microscopy of vessels and blood]. Moscow, Medicine, 1976:168 p. (in Russ.)].
 32. Волкова О.В., Шахламов В.А., Миронов А.А. *Атлас сканирующей электронной микроскопии клеток, тканей и органов*. М.: Медицина, 1987. 464 с. [Volkova O.V., Shahlamov V.A., Mironov A.A. *Atlas skanirujushhey jelektronnoj mikroskopii kletok, tkanej i organov* [Atlas of the scanning electron microscopy of cells, tissues and organs]. Moscow, Medicine, 1987:464 p. (in Russ.)].
 33. Шевела А.А., Тодер М.С., Матвеева В.А., Артемьева Л.В., Матвеев А.Л., Мейснер С.Н., Мейснер Л.Л., Шевела А.И., Аникеев А.А., Фигуренко Н.Ф., Маслов Р.В., Байбородин С.И., Майбородин И.В. Химически чистое кремниевое и танталовое покрытие не токсично для мезенхимальных стромальных клеток и усиливает цитосовместимость электрополированного сплава никелида титана. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии*. 2017;20(3(62)):45-50. [Shevela A.A., Toder M.S., Matveeva V.A., Artemeva L.V., Matveev A.L., Meisner S.N., Meisner L.L., Shevela A.I., Anikееv A.A., Figurenko N.F., Maslov R.V., Bayborodin S.I., Maiborodin I.V. Chemically pure silicon and titanium coating is not toxic for mesenchymal stromal cells and improves cytological compatibility of electropolished TiNi alloy. *Issues of Reconstructive and Plastic Surgery*. 2017;20(3(62)):45-50 (in Russ.)].
 34. Head J.R., Seeling L.L. Jr. Lymphatic vessels in the uterine endometrium of virgin rats. *J. Reprod. Immunol.* 1984;6(3):157-66.
 35. Cronce M.J., Faulknor R.A., Pomerantseva I., Liu X.H., Goldman S.M., Ekwueme E.C., Mwizerwa O., Neville C.M., Sundback C.A. In vivo response to decellularized mesothelium scaffolds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2018;106(2):716-725. doi: 10.1002/jbm.b.33879.
 36. Segreto F., Carotti S., Marangi G.F., Tosi D., Zingariello M., Pendolino A.L., Sancillo L., Morini S., Persichetti P. The role of angiogenesis, inflammation and estrogen receptors in breast implant capsules development and remodeling. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2018;71(5):637-643. doi: 10.1016/j.bjps.2017.12.003.
 37. Truong T., Jones K.S. Capsaicin reduces PLGA-induced fibrosis by promoting M2 macrophages and suppressing overall inflammatory Response. *J Biomed Mater Res A*. 2018;106(9):2424-2432. doi: 10.1002/jbm.a.36436.
 38. Fredriksson M.I., Gustafsson A.K., Bergstrom K.G., Asman B.E. Constitutionally hyperreactive neutrophils in periodontitis. *J. Periodontol.* 2003;74(2):219-24.

Поступила в редакцию 05.12.2018, утверждена к печати 20.04.2019
Received 05.12.2018, accepted for publication 20.04.2019

Сведения об авторах:

Майбородин Игорь Валентинович*, д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник лаборатории технологий управления здоровьем Центра новых технологий ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск).

<http://orcid.org/0000-0002-8182-5084>

E-mail: imai@mail.ru

Михеева Татьяна Владимировна, канд. мед. наук, докторант лаборатории технологий управления здоровьем Центра новых технологий ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск).

<http://orcid.org/0000-0003-2249-5174>

E-mail: tatiana.perrin@gmail.com

Хоменюк Сергей Владимирович, мл. науч. сотрудник лаборатории технологий управления здоровьем ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск).

<https://orcid.org/0000-0002-7346-926X>

E-mail: xoma774@ngs.ru

Ярин Геннадий Юрьевич, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник отдела нейровертебрологии ННИИТО (г. Новосибирск).

E-mail: metrogyl@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2011-1253>

Вильгельми Инна Александровна, врач-гинеколог Центра урологии и гинекологии ННИИТО (г. Новосибирск).
E-mail: tatiana.perrin@gmail.com
dr.vilgelmi.allurg@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7769-6147>

Майбородина Виталина Игоревна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник лаборатории ультраструктурных основ патологии ИМПМ (г. Новосибирск).
<http://orcid.org/0000-0002-5169-6373>
E-mail: mai_@mail.ru

Шевела Андрей Иванович, д-р мед. наук, профессор, зав. отделом «Центр новых медицинских технологий» ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск).
<http://orcid.org/0000-0002-3164-9377>
E-mail: ashevela@mail.ru

Information about authors:

Igor V. Maiborodin, Dr. Med. Sci., Professor, Chief Researcher, Laboratory of Health Management Technologies, The Center of New Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, The Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.
<http://orcid.org/0000-0002-8182-5084>
E-mail: imai@mail.ru

Tatiana V. Mikheeva, Cand. Med. Sci., doctoral student of the Laboratory of Health Management Technologies, The Center of New Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, The Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.
<http://orcid.org/0000-0003-2249-5174>
E-mail: tatiana.perrin@gmail.com

Sergey V. Khomenyuk, Junior Researcher, Laboratory of Health Management Technologies, The Center of New Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, The Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.
<https://orcid.org/0000-0002-7346-926X>
E-mail: xoma774@ngs.ru

Gennadiy Yu. Yarin, Cand. Med. Sci., Leading Researcher, Functional Group of Neurovertebrology, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Novosibirsk, Russian Federation.
<https://orcid.org/0000-0003-2011-1253>
E-mail: metrogyl@yandex.ru
телефон +7-933-100-0333

Inna A. Vilgelmi, researcher of Functional Group of Neurovertebrology, Functional Group of Neurovertebrology, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Novosibirsk, Russian Federation.
<https://orcid.org/0000-0001-7769-6147>
E-mail: tatiana.perrin@gmail.com
dr.vilgelmi.allurg@yandex.ru

Vitalina I. Maiborodina, Dr. Med. Sci., Leading Researcher, Laboratory of ultrastructural basis of pathology, Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal State Budget Scientific Institution "Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine", Novosibirsk, Russian Federation.
<http://orcid.org/0000-0002-5169-6373>
E-mail: mai_@mail.ru

Andrey I. Shevela, Dr. Med. Sci., Professor, Head of the Center of New Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, The Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.
E-mail: ashevela@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-3164-9377>