

2. *Вельшер Л. З., Стаханов М. Л., Горчак Ю. Ю., Васильева О. А., Ишевский Г. Б., Чочуа Г. А.* Роль лазерного излучения в органосохраняющем лечении больных локализованным раком почки // *Материалы V конгресса Российского Общества онкоурологов (6–8 октября 2010 г.)*. М., 2010.
3. *Гемонов В. В., Лаврова Э. Н.* Гистология и эмбриология: атлас; учебное пособие / Под ред. чл.-корр. РАМН С. Л. Кузнецова. М.: ГЭОТАР–Медиа, 2013.
4. *Данилов Р. К., Боровая Т. Г.* Курс эмбриологии с основами тератологии: учебник. СПб.: ВМедА, 2016.
5. *Жункейра Л. К., Карнейро Ж.* Гистология: атлас; учебное пособие / Под ред. В. Л. Быкова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.
6. *Клишов А. А.* Гистогенез и регенерация тканей. Л.: Медицина, 1984.
7. *Кузнецов С. Л., Мушамбаров Н. Н.* Гистология, цитология и эмбриология: учебник. 3-е изд., испр. и доп. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2016.
8. *Леонтьев А. С., Слука Б. А.* Основы возрастной гистологии: учебное пособие. Мн.: Высшая школа, 2000.
9. *Руководство по гистологии: В 2 Т.* / Под ред. Р. К. Данилова. 2-е изд., испр. и доп. СПб.: СпецЛит, 2011.

*Лискова Ю. В.<sup>1</sup>, Стадников А. А.<sup>1</sup>, Саликова С. П.<sup>2</sup>*

## **ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА РЕГЕНЕРАТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МИОКАРДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

*<sup>1</sup>Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (заведующий – проф. А. А. Стадников)  
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»  
Минздрава России;*

*<sup>2</sup>2-я кафедра терапии усовершенствования врачей (заведующий – проф. В. Б. Гриневич)  
ФГБ ВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова»  
Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург,  
e-mail:liskovaj@bk.ru*

---

Тканевой гомеостаз миокарда поддерживается правильным соотношением пролиферации, дифференцировки и гибели как кардиомиоцитов (КМЦ), так и компонентов внеклеточного матрикса (ВМ). В последние десятилетия показана способность КМЦ взрослых млекопитающих (в том числе и человека) к делению [6]. Процесс обновления, вероятно, происходит либо за счет кардиальных резидентных прогениторных клеток, либо за счет пролиферации уже существующих КМЦ. Известно, что пролиферативный и регенеративный потенциал КМЦ и сердечных клеток-предшественниц зависит от ряда факторов, в том числе от целостности теломер и активности теломеразы [9]. Предполагается, что дисфункция теломер и повышенная восприимчивость к апоптозу в сердечных миоцитах

являются основным механизмом сердечной недостаточности [5]. Таким образом, факторы, влияющие на генерацию КМЦ, продолжают оставаться потенциальными мишенями для активного изучения.

**Цель настоящей работы** — изучить влияние мелатонина на регенераторный потенциал миокарда левого желудочка (ЛЖ) крыс-самцов в условиях экспериментальной сердечной недостаточности (ЭСН).

**Материал и методы.** Исследование проведено на 40 крысах-самцах линии Wistar массой 180–230 г. Контролем служили 10 интактных крыс.

У 30 животных основной группы моделировали ЭСН путем подкожного введения в течение 14 суток 0,1 мл 1 %-ного раствора мезатона с последующим плаванием до глубокого утомления [1]. На 14-е сутки ЭСН 10 животных декапитировали под эфирным рауш-наркозом.

20 опытных животных с ЭСН были разделены на 2 группы: 10 крысам вводили в течение 14 дней подкожно мелатонин (Sigma-Aldrich, USA) в дозе 1 мг/кг чистого вещества, разведенного в смеси: 0,2 мл 0,9 %-ного хлорида натрия в 98 %-ном этаноле (9:1 объем/объем), 10 животным подкожно вводили 0,2 мл 0,9 %-ного хлорида натрия ежедневно. На 28-е сутки опыта животные были выведены из эксперимента.

Содержание крыс в виварии и проведение экспериментов соответствовали «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных приказами Минздрава СССР № 1045 от 6 апреля 1973 года, № 1179 от 10 октября 1983 года.

Миокард ЛЖ контрольных и экспериментальных крыс был подвергнут стандартной однотипной обработке и изучен с помощью световой микроскопии — после окраски парафиновых срезов гематоксилином Майера-эозином, иммуногистохимических (ИГХ) реакций (оценка экспрессии синтеза белков ki-67 — индекс пролиферации (ИП), виментин (vimentin (vim)) — степень фиброза и каспаза-9 (caspase-9 (cas-9)) — индекс апоптоза (ИА) с использованием моноклональных антител и набора реактивов («Spring Bioscience», USA)), методов морфометрии.

ИП и ИА определяли как число окрашенных КМЦ, деленное на 1000 клеток в случайно выбранных 20 полях зрения. Оценку локализации и интенсивности иммунной реакции vim+ проводили полуколичественным методом +/++++ в случайно выбранных 20 полях зрения (100 %). Цитологический анализ структурно-функциональной реорганизации мышечной и стромальной частей миокарда проводили в условных полях зрения микроскопа ОРТКА В-350 (Италия), микрофотографии получали с использованием цифровой фотокамеры ScopeTek DCM 500 (Италия) и программы ScopePhoto с указанной окулярной вставкой при исследовании 20 полей зрения гистологических срезов (об. 40, ок. 20). В каждом препарате исследовали не менее 1000 клеток. Статистический анализ количественных данных проводили с использованием программного обеспечения «Statistica 6.0».

**Результаты исследования и их обсуждение.** При ЭСН происходили значительные изменения мышечных и стромальных элементов миокарда, что согласуется с результатами наших предыдущих работ [1]. Активация стромального компонента миокарда характеризовалась расширением сосудов МЦР с явлениями слад-

жирования, межмышечным отеком и диапедезом эритроцитов, скоплением клеток фибробластоподобного ряда. Эти результаты согласуются с ИГХ картиной экспрессии белка промежуточных филаментов – виментина (табл. 1). При ЭСН возрастание количества  $\text{vim}(+)$  клеток между волокнами миокарда и периваскулярно сопровождалось увеличением количества  $\text{ki-67}(+)$  клеток стромы, что демонстрирует пролиферативную активность ВМ. Это согласуется с данными о том, что стромальные клетки пролиферируют со значительно большей скоростью (в 20–40 раз выше), чем КМЦ, обуславливая замещение дефекта в зоне повреждения [3]. При сравнительном анализе выраженность описанных изменений преобладала в строме у самцов на 14 сутках ЭСН и нарастала в группе ЭСН + NaCl, способствуя развитию диффузного и очагового кардиосклероза.

Таблица 1

ЭКСПРЕССИЯ СИГНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ (Ki-67, КАСПАЗА-9, ВИМЕНТИН)  
В МИОКАРДЕ ЛЖ КРЫС В ГРУППАХ (M ± M)

Группы животных	ИП, %о Ki-67	ИА, %о Каспаза-9	Виментин
Интактные самцы (контроль)	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,04	+/++ (25/75 %)
Самцы (14 суток ЭСН)	2,77 ± 0,78	9 ± 1,4*	++/+++ (40/50 %)
Самцы (14 суток ЭСН + 14 суток NaCl)	1,8 ± 0,53	12 ± 1,4*	++/+++ (30/80 %)
Самцы (14 суток ЭСН + 14 суток мелатонин)	5,3 ± 0,12*	3 ± 0,91*	++/+++ (70/30 %)

*Примечание:* ЭСН – экспериментальная сердечная недостаточность. ИП – индекс пролиферации, ИА – индекс апоптоза (количество иммунопозитивных КМЦ). Виментин – степень фиброза (клетки стромы).

\*  $p < 0,05$  при сравнении с контролем.

В группе крыс с ЭСН и введением мелатонина реже встречались участки с интерстициальным отеком, гемодинамическими нарушениями, встречалась умеренная экспрессия  $\text{vim}(+)$  клеток ВМ. Механизм подобной цитопротекции ряд авторов связывает с про- и антиоксидантными свойствами мелатонина [4], положительным регулирующим влиянием на соотношение матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов [8].

Клеточная пролиферация и апоптоз являются сопряженными процессами и важными механизмами поддержания тканевого гомеостаза миокарда. В нашем исследовании отмечалось повышение индекса пролиферации КМЦ (экспрессия белка  $\text{ki-67}$ ) у крыс с ЭСН, со значимым увеличением у крыс с ЭСН при введении мелатонина, в отличие от самцов с ЭСН + NaCl (см. табл. 1). КМЦ, экспрессирующие  $\text{ki-67}(+)$ , в основном были представлены одноядерными, реже двужядерными гипертрофированными или обычных размеров миоцитами. Гипотетически, можно предположить, что регенеративные процессы могут происходить в миокарде и за счет резидентных клеток, вступающих в митотический цикл уже во взрослом организме, или слияния клеток-предшественниц из костного мозга с су-

ществующими КМЦ [7]. В литературе имеются указания, что мелатонин оказывает благоприятное влияние на длину теломер, активизируя экспрессию теломеразы в КМЦ и сердечных прогениторных клетках, вероятно, увеличивая таким образом пул пролиферирующих КМЦ [2].

Считается, что сигнальные пути, приводящие клетку к митозу (протеинкиназа С, клеточные протоонкогены и др.), также обеспечивают чувствительность ее хроматина к эндонуклеазам, запуская при этом запрограммированную клеточную гибель [6]. При анализе апоптотического индекса (экспрессия каспазы-9) выявлено значимое увеличение КМЦ с признаками апоптоза в группе самцов с ЭСН и ЭСН + NaCl. Под воздействием мелатонина отмечалось снижение индекса апоптоза КМЦ с одновременным увеличением индекса их пролиферации, а также регресс патологических изменений в структуре миокарда, что мы расцениваем как кардиопротективное и антиапоптотическое действие мелатонина на миокард.

Резюмируя изложенное, можно сделать заключение, что в миокарде при сердечной недостаточности происходит активация апоптоза КМЦ в условиях сниженного регенераторного потенциала миокарда. Воздействие мелатонина на миокард создает необходимые условия для адекватной активации компенсаторных механизмов в КМЦ, микрососудах, интерстиции на фоне снижения апоптотической доминанты и активации клеточных и внутриклеточных форм регенерации КМЦ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лискова Ю. В., Саликова С. П., Стадников А. А. Экспериментальные модели сердечной недостаточности: состояние вопроса и результаты собственного исследования // Морфологические ведомости. 2014. № 1. С. 46–53.
2. Chein E., Demura H. Bio-Identical Hormones and Telomerase. 2011.
3. Fan D., Takawale A., Lee J., Kassiri Z. Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease // Fibrogenesis & Tissue Repair. 2012. Vol. 5(15). P. 1–13.
4. Korkmaz A., Reiter R. J., Topal T., Manchester L. C., Oter S., Tan D.-X. Melatonin: an established antioxidant worthy of use in clinical trials // Mol. Med. 2009. Vol. 15(1–2). P. 43–50.
5. Leri A., Barlucchi L., Limana F., Deptala A., Darzynkiewicz Z., Hintze T. H., Kajstura J., Nadal-Ginard B., Anversa P. Telomerase expression and activity are coupled with myocyte proliferation and preservation of telomeric length in the failing heart // PNAS. 2001. Vol. 98(15). P. 8626–8631.
6. Senyo S. E., Lee R. T., Kühn B. Cardiac regeneration based on mechanisms of cardiomyocyte proliferation and differentiation // Stem Cell Res. 2014. Vol. 13(3). P. 532–541.
7. Steinhauser M. L., Lee R. T. Regeneration of the heart // EMBO Mol. Med. 2011. Vol. 3(12). P. 701–712.
8. Swarnakar S., Paul S. et al. Matrix metalloproteinases in health and disease: regulation by melatonin // J. of Pineal Res. 2011. Vol. 50 (1). P. 8–20.
9. Yeh J.-K., Wang C.-Y. Telomeres and telomerase in cardiovascular diseases // Genes. 2016. Vol. 7(58). P. 1–18.