

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 616.8–091.817, 616–003.98  
 doi:10.18499/2225-7357-2023-12-2-39-48  
 1.5.22 – клеточная биология  
 3.3.2 – патологическая анатомия



## Морфофункциональные изменения скелетных мышц задних конечностей крыс в условиях вынужденной анаэробной физической нагрузки и применения аллогенного биоматериала

А. И. Лебедева<sup>✉</sup>, Е. М. Гареев, И. В. Сироткина, М. Ф. Галаутдинов

Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

**Аннотация.** Изнуряющие физические нагрузки приводят к перенапряжению саркомера, разрушению клеточной мембраны, гидролизу структурных белков, что является причиной необратимого повреждения мышечных волокон. Аллогенный биоматериал (АБ) применяется для регенерации различных тканей и органов. **Целью исследования** явилось выявление морфофункциональных особенностей скелетной мышечной ткани после физической нагрузки и в условиях применения АБ. **Материал и методы.** В эксперименте использовались крысы-самцы Wistar. Моделью анаэробной физической нагрузки явился тест Порсолта с грузом 10% от массы тела в течение 30 дней. После тренировок в основной группе (n=10) вводили суспензию АБ суммарно 4 мл 0,2% раствора в мышцы передних и задних конечностей. В контрольной группе (n=10) вводили физиологический раствор в аналогичные зоны. Через 5 и 21 сутки после инъекций проводили исследование толерантной нагрузки. Затем животных выводили из опыта и проводили гистологические исследования мышц задних конечностей, измеряли общее количество, среднюю площадь поперечного сечения мышечных волокон, численность некротизированных волокон. **Результаты.** В контрольной группе животных через 5 и 21 сутки происходили дистрофические изменения мышечных волокон: контрактуры III, IV степеней, нарушение микроциркуляции, мозаичный некроз мышечных волокон, воспалительно-клеточная инфильтрация, снижение толерантной нагрузки. Через 21 сутки обнаруживался фиброз. Введение АБ способствовало рабдомиогенезу уже через 5 суток. Снижалась воспалительно-клеточная инфильтрация, восстанавливалась полигональность профилей мышечных волокон, нивелировались отеки. Происходила гиперплазия мышечных волокон, снижение численности некротизированных мышечных волокон, ингибирование фиброза, повышение толерантной нагрузки. АБ подвергался биодеградации. **Заключение.** АБ способствовал снижению признаков дистрофических изменений мышечных волокон, усилению актопротекторного механизма, восстановлению физической активности в ранние сроки.

**Ключевые слова:** аллогенный биоматериал; скелетная мышечная ткань; регенерация; макрофаги; вынужденная физическая нагрузка

**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного задания №056-00124-21-00, утвержденного 23.12.2020 г.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Лебедева А.И., Гареев Е.М., Сироткина И.В., Галаутдинов М.Ф. Морфофункциональные изменения скелетных мышц задних конечностей крыс в условиях вынужденной анаэробной физической нагрузки и применения аллогенного биоматериала // Журнал анатомии и гистопатологии. 2023. Т. 12, №2. С. 39–48. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-2-39-48>

## ORIGINAL ARTICLES

Original article

## Morphological and Functional Changes in the Skeletal Muscles of the Hind Limbs in Rats under Enforced Anaerobic Physical Exertion and Allogeneic Biomaterial Application

A. I. Lebedeva<sup>✉</sup>, E. M. Gareev, I. V. Sirotkina, M. F. Galautdinov

Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

**Abstract.** Exhausting physical activity leads to sarcomere overstrain, destruction of the cell membrane, hydrolysis of structural proteins, thus, resulting in irreversible damage to muscle fibers. Allogeneic biomaterial (AB) is applied to regenerate various tissues and organs. **The aim** of the study was to identify morphofunctional features of the skeletal muscle tissue after physical exertion and under AB application. **Material and methods.** This experimental study involved male Wistar rats. Anaerobic physical exertion was simulated using the Porsolt test with a load equal 10% of the body weight for 30 days. After training, animals of the main group (n=10) were

injected AB suspension: 4 ml of a 0.2% solution into the muscles of the fore and hind limbs totally. Animals of the control group (n=10) received physiological saline into similar zones. Tolerant load was investigated in 5 and 21 days after injection. Then the animals were withdrawn from the experiment, and muscles of the hind limbs were studied histologically, the total number, the average cross-sectional area of muscle fibers, and the number of necrotic fibers were measured. **Results.** In 5 and 21 days animals from the control group manifested dystrophic changes in muscle fibers: type III, IV contractures, microcirculation disorders, mosaic necrosis of muscle fibers, inflammatory cell infiltration, and a decreased tolerant load. In 21 days fibrosis was detected. The AB introduction provided rhabdomyogenesis as soon as in 5 days. Inflammatory cell infiltration decreased, the polygonality of muscle fiber profiles was restored, and edematous phenomena were leveled. There was hyperplasia of muscle fibers, a decreased number of necrotic muscle fibers, inhibited fibrosis, and an increased tolerant load. AB further biodegraded. **Conclusion.** AB contributed to the reduced manifestations of dystrophic changes in muscle fibers, strengthened actoprotective mechanism, and restored physical activity in the early stages.

**Keywords:** allogeneic biomaterial; skeletal muscle tissue; regeneration; macrophages; forced physical activity

**Funding:** the study was carried out within the framework of the state task No. 056-00124-21-00, approved on December 23, 2020.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflict of interests.

**For citation:** Lebedeva A.I., Gareev E.M., Sirotkina I.V., Galautdinov M.F. Morphological and functional changes in the skeletal muscles of the hind limbs in rats under enforced anaerobic physical exertion and allogeneic biomaterial application. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2023. V. 12, №2. P. 39–48. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-2-39-48>

## Введение

Спорт высших достижений часто связан с усиленными физическими нагрузками, которые часто приводят к травматизму и повышенным требованиям к здоровью [12]. Экспериментально показано, изнуряющие физические нагрузки вызывают чрезмерное напряжение саркомера, разрушение внеклеточной или внутриклеточной мембраны, гидролиз структурных белков, что является основной причиной повреждения мышечных волокон [7]. Воспаление, возникающее после травмы, приводит к дальнейшей деградациии ткани, но предотвращение воспаления приводит к долгосрочной потере мышечной функции [16]. В настоящее время терапия миофасциального синдрома направлена на нивелирование болевого синдрома, расслабление и растяжение поврежденных мышц. Для этого используют фармакологические средства (миорелаксанты, нестероидные противовоспалительные средства, анальгетики) и нефармакологические методы воздействия (приемы постизометрической релаксации, массаж, мануальную терапию, лечебную физкультуру, иглоукалывание, электростимуляцию и другие физиотерапевтические методы) [13]. Микроповреждения мышечного волокна восстанавливаются за счет внутриклеточной регенерации, мышечных почек, которые растут навстречу друг другу, а затем сливаются в миосимпласт. При значительных повреждениях на протяжении мышечного волокна наблюдается усиленная пролиферация миосателлитов, которые мигрируют в область дефекта и формируют миотрубку. Тем не менее, при миграции фибробластов и нарушении двигательной иннервации мышечных волокон развивается соединительнотканый рубец [6].

Поиск оптимальных фармакологических средств, стимулирующих раннее и эффективное восстановление поврежденных мышечных тканей, вследствие пересокраще-

ния, длительного утомления, влияния оксидативного стресса является актуальной задачей для специалистов медико-биологического профиля. Аллогенный биоматериал известен как стимулятор регенерации различных тканей и органов при его местном применении [3]. Однако, исследования в отношении коррекции воспалительно-дегенеративных процессов в условиях перенапряжения скелетной мышечной ткани ранее не проводились.

Целью исследования явилось выявление морфофункциональных особенностей скелетной мышечной ткани после вынужденной изнуряющей физической нагрузки и в условиях применения аллогенного биоматериала в эксперименте.

## Материал и методы исследования

В работе использовались половозрелые крысы-самцы линии Wistar (n=20) массой 200–240 г. Крыс содержали в пластиковых клетках при естественном освещении и температуре 22–24°C, кормили брикетированными комбикормами. Вода подавалась без ограничений. Все манипуляции с животным были проведены в соответствии с этическими принципами, утвержденными этическим комитетом при ФГБОУ ВО «БГМУ» Минздрава России, протокол № 63 от 22.08.2022 г. и установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей [1]. Моделью анаэробной физической нагрузки была выбрана методика принудительного плавания крыс до полного утомления с грузом – тест Порсолта (Porsolt) или тест отчаяния в модификации (патент на изобретение № 261706 от 21.04.2017 г.). Плавательный тест проводили ежедневно в течение тридцати дней подряд с 9:00 до 11:00 часов утра. Вес груза подбирали в соответствии с весом животного в данном периоде времени, что составляло 10% от массы тела. Перед

началом проведения теста «вынужденное плавание» всех экспериментальных крыс обучали плаванию в течение 3 дней без груза по 10 минут один раз в день.

В основной группе (n=10) после проведения всех 30 тренировок вводили внутримышечно суспензию диспергированного аллогенного биоматериала (АБ). Для этого 1 флакон (10 мг) разводили в 5 мл физиологического раствора и получали 0,2% раствор. Проводили 8 однократных инъекций в мышцы передних конечностей: двуглавую мышцу плеча, поверхностные мышцы сгибатели предплечья – локтевой и лучевой сгибатели запястья и задних конечностей: в икроножные, четырехглавые мышцы бедра. Вводили по 0,5 мл суспензии АБ в общем количестве 4 мл. Доза АБ была выбрана произвольно. В качестве АБ использовали диспергированную форму биоматериала «Аллоплант™» с размером частиц 50–80 мкм, разработанного в ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ г. Уфы. Биоматериал изготавливается согласно ТУ 42-2-537-87. Для настоящего исследования АБ был изготовлен из бесклеточного экстрацеллюлярного матрикса сухожилий крыс. В контрольной группе (n=10) животным вводили физиологический раствор в аналогичные зоны и в том же объеме. С целью функционального тестирования проводили исследование толерантной нагрузки, определяли длительность плавания крыс (сек.) через 5 и 21 сутки.

Через 5 и 21 сутки после инъекций животных выводили из опыта путем инсуффляции летальной дозы паров хлороформа, иссекали мышечные ткани бедренных и икроножных мышц. Для проведения гистологического исследования кусочки ткани фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону. Для иммуногистохимических исследований парафиновые срезы окрашивали с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond™ (Германия). В качестве первого антитела применяли PCNA, (Santa Cruz Biotechnology, США). Для окрашивания использовали непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия).

Для электронномикроскопического исследования кусочки тканей фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, приготовленного на какодилатном буфере (pH 7,2–7,4) с дофиксацией в 1% растворе OsO<sub>4</sub> на том же буфере. Материал обезживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон-812 по общепринятой методике. Предварительно готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм, и окрашивали их толудиновым

синим на 2,5% растворе безводной соды. На данных срезах выбирали участки для электронно-микроскопического исследования. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме EM UC 7 (Leica, Германия). Ультратонкие срезы контрастировали 2% водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу и изучали в трансмиссионном микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Измеряли общее количество мышечных волокон, численность некротизированных волокон на поперечном сечении мышечного брюшка, среднюю площадь поперечного сечения мышечных волокон. Подсчет волокон производили в 20 полях зрения каждого образца. Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием микроскопа Leica DMD 108 (Германия) со специализированным программным обеспечением. Использовали ранговый дисперсионный анализ по Краскелу–Уоллису: медиана (Me) и квартили [Q1; Q3] и критерий Манна–Уитни для сравнения результатов отдельных сроков наблюдения внутри одной серии опытов или между ними. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Использовали статистический пакет программ Statistica 10,0.

### Результаты и их обсуждение

При морфологическом анализе бедренной и икроножной мышц обнаружилось, что в контрольной группе через 5 суток определялись признаки активной пластической реорганизации. Профили мышечных волокон утрачивали свою полигональность, приобретали округлые формы, возрастала вариативность их диаметров вследствие отека. В ряде волокон выявлялся очаговый рабдомиолизис. На месте разрушенных мышечных волокон определялись нейтрофилы, макрофаги (рис. 1А). Также отмечены признаки активации фибробластических клеток: определялся умеренно развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум (ГЭР), в цитозоле находились свободные и фиксированные рибосомы. Возле клеток определялись новообразованные фибриллы коллагеновых волокон (рис. 1В). Встречались контрактурно измененные волокна III, IV степени выраженности (рис. 1С). Выявлялись признаки нарушения микроциркуляции, которые проявлялись в периваскулярном отеке, повышении проницаемости сосудистой стенки, она была набухшей и отечной. В перимизимальных пространствах определялись гемокапилляры и венулы с признаками стаза эритроцитов. Нередко отмечались кровоизлияния и явления геморрагического пропитывания мышечной ткани (рис. 1D). Межмиофибриллярные пространства были резко расширены. В них определялись осmioфильные тельца, липофусциновые включения. Мышечные волокна часто были в



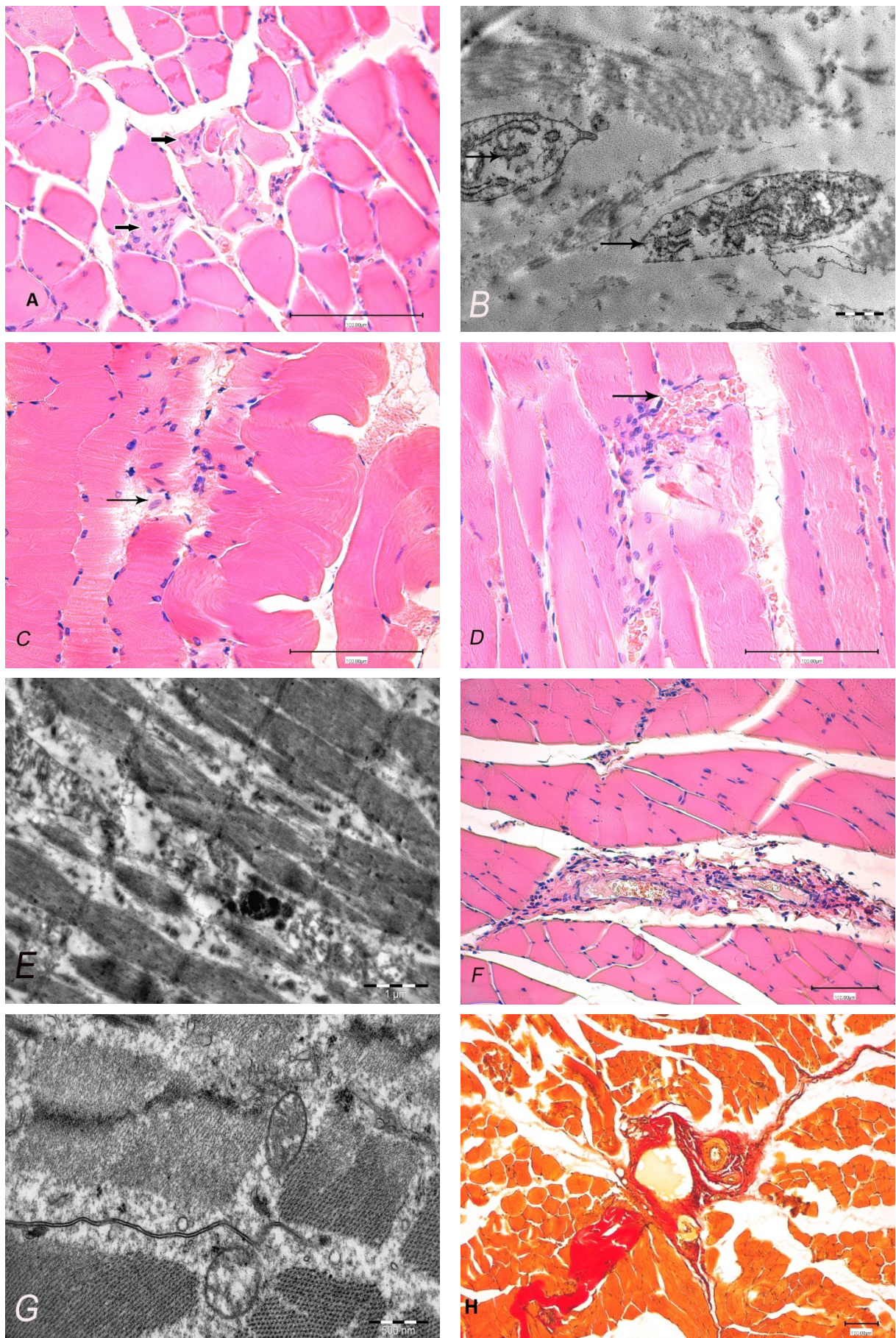


Рис. 1. Патоморфологические изменения скелетной мышечной ткани в контрольной группе через 5 суток после вынужденного плавания и введения физраствора. А – рабдомиолиз бедренной мышцы; некротизированные мышечные волокна, инфильтрированные воспалительными клетками (↑). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400. В – юные фибробласты (↑). Электронограмма. Ув. 8000.



Продолжение подписи к рис. 1.

С – контрактуры III, IV степени, разрыв волокон (↑). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400. D – кровоизлияния и геморрагическое пропитывания. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400. E – разрушение миофибрилл, вакуолизация митохондрий. Электронограмма. Ув. 10000. F – воспалительно-клеточная инфильтрация нейтрофилами и эозинофилами в периваскулярной зоне через 21 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200. G – ультраструктура мышечных волокон икроножных мышц через 5 суток после вынужденного плавания. Электронограмма. Ув. 10000. H – периваскулярный и интерстициальный фиброз мышечной ткани бедренной мышцы через 21 сутки (↑). Окраска по Ван-Гизону. Ув. 100.

*Fig. 1. Pathological changes in skeletal muscle tissue in animals from the control group in 5 days after the enforced Porsolt swimming test and introduction of physical solution. A – rhabdomyolysis of the femoral muscle. Necrotized muscle fibers infiltrated with inflammatory cells (↑). Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 400. B – young fibroblasts (↑). Electronogram. Magnification 8000. C – type III, IV contractures, fiber rupture (↑). Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 400. D – hemorrhage and hemorrhagic impregnation. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 400. E – myofibril destruction, mitochondria vacuolization. Electronogram. Magnification 10000. F – inflammatory cell infiltration with neutrophils and eosinophils in the perivascular zone in 21 days. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 200. G – ultrastructure of the muscle fibers of the calf muscles in 5 days after the enforced Porsolt swimming test. Electronogram. Magnification 10000. H – perivascular and interstitial fibrosis of the muscle tissue of the femoral muscle in 21 days (↑). Van Gieson staining. Magnification 100.*

состоянии деструкции и выявлялись в виде фрагментов. Митохондрии были набухшие, с просветленным матриксом, кристы фрагментированы, наружная митохондриальная мембрана повреждена. Z-линии утрачивали четкость, были размытые или отсутствовали вообще. М-линии не визуализировались в силу пересокращения. Т-трубочки и терминальные цистерны саркоплазматической сети расширены (рис. 1E).

Через 21 сутки сохранялись признаки отека периваскулярного и перимизиального пространств, присутствовала воспалительно-клеточная инфильтрация (рис. 1F). Отмечались признаки контрактурных изменений мышечных волокон, их гипертрофия, отек, утрата регулярной поперечной исчерченности. Миофибриллы в мышечных волокнах разрозненны, Z-линии изрезаны или смещены. Митохондрии округлые, набухшие, кристы разрушены, гомогенизированы. Межфибрилярные пространства расширены, содержали мелкодисперсный гомогенат (рис. 1G). На месте поврежденных мышечных волокон отмечался выраженный интерстициальный и периваскулярный фиброз (рис. 1H).

В основной группе после применения АБ в бедренной и икроножной мышцах спустя 5 суток обнаруживались признаки восстановления структуры скелетной мышечной ткани. Выявлялась полигональность профилей мышечных волокон, которые располагались компактно. Отечные и воспалительные явления в перимизиальном и периваскулярном пространствах отсутствовали. Отмечалось умеренное кровенаполнение сосудов различного калибра. В эндотелиоцитах гемокапилляров отмечался активный пино- и везикулоцитоз. Просветы сосудов свободные, расширенные (рис. 2A). Отчетливо визуализировалась поперечная исчерченность мышечных волокон. Осмиофильные Z- и М-линии располагались в строгой последовательности на одинаковом расстоянии друг от друга и были организованы в саркомы. Межфибрилярные про-

странства сужены. Т-тубулярная система умеренно развита. В субсарколеммальном пространстве отмечались скопления разнокалиберных митохондрий с четкими параллельно ориентированными ламеллярными кристами, а также гранулы гликогена (рис. 2B.). Миосимпластические ядра располагались в субсарколеммальном регионе и четко определялись на светоптическом уровне. Они были веретенообразной формы с хорошо развитым ядрышковым аппаратом. Возле фрагментированных, поврежденных миосимпластов выявлялись макрофаги и цепочки мышечных ядер (рис. 2C). Многочисленные ядра мышечных клеток были PCNA-позитивны, находились в стадии пролиферации (рис. 2D). Обнаруживались признаки рабдомиогенеза.

В зоне имплантации аллогенного биоматериала его частицы были инфильтрированы преимущественно макрофагами, также встречались единичные лимфоциты и нейтрофилы, как следствие операционной травмы. На данном сроке в толще аллотрансплантата обнаруживались как тяжи эндотелиальных клеток в виде сосудистых почек, так и разнонаправленные новообразованные гемокапилляры с тонкой сосудистой стенкой и свободным просветом. Фрагменты биоматериала набухали и лизировались макрофагами (рис. 2E).

Ультраструктура макрофагов отражала процессы активного фагоцитоза. В цитоплазме наблюдались многочисленные везикулы, фагосомы. Крупные округлые митохондрии имели четкие параллельно ориентированные кристы, плотный матрикс. Отмечались короткие каналы ГЭР, полисомы. Ядра макрофагальных клеток были крупных размеров с глубокими инвагинациями. Кариоплазма содержала эухроматин, а конденсированный гетерохроматин располагался вдоль внутренней ядерной мембраны. Определялись многочисленные ядерные поры (рис. 2F).

Спустя 21 сутки в бедренной мышце при поперечном сечении обнаруживались

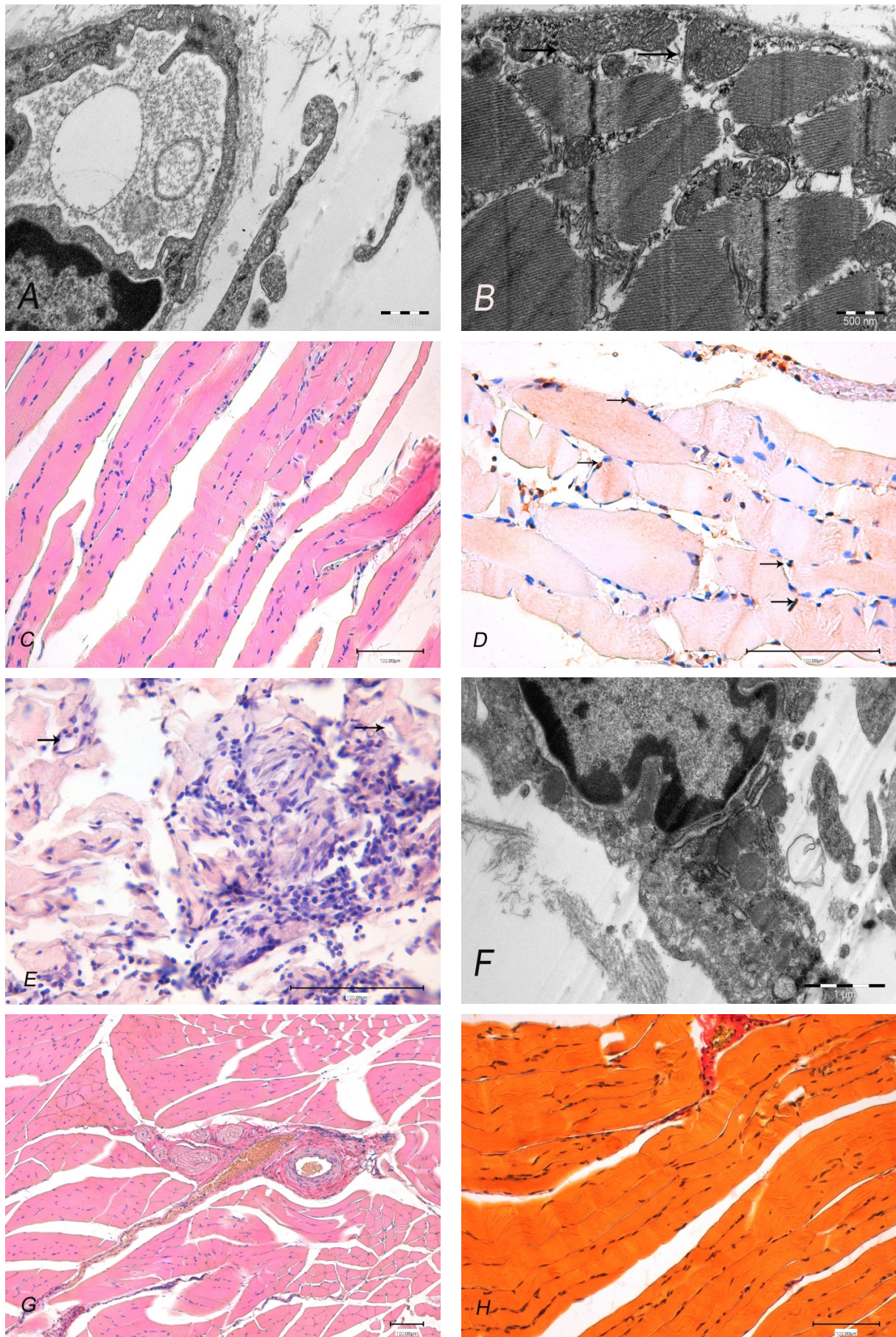


Рис. 2. Восстановление структуры мышечной ткани бедренной мышцы после применения АБ. А – Гемокапилляр в мышечной ткани через 5 суток. Электронограмма. Ув. 10000. В – регулярная поперечная исчерченность мышечных волокон, скопления митохондрий (↑) в мышечной ткани через 5 суток. Электронограмма. Ув. 15000. С – цепочки мышечных ядер в мышечной ткани через 5 суток. Электронограмма. Ув. 15000. Д – регулярная поперечная исчерченность мышечных волокон, скопления митохондрий (↑) в мышечной ткани через 5 суток. Электронограмма. Ув. 15000. Е – цепочки мышечных ядер в мышечной ткани через 5 суток. Электронограмма. Ув. 15000. F – Гемокапилляр в мышечной ткани через 5 суток. Электронограмма. Ув. 15000. G – регулярная поперечная исчерченность мышечных волокон, скопления митохондрий (↑) в мышечной ткани через 5 суток. Электронограмма. Ув. 15000. H – регулярная поперечная исчерченность мышечных волокон, скопления митохондрий (↑) в мышечной ткани через 5 суток. Электронограмма. Ув. 15000.



Продолжение подписи к рис. 2.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200. D – пролиферация ядер мышечных клеток в мышечной ткани через 5 суток (↑). Непрямой иммунопероксидазный метод выявления PCNA с докраской гематоксилином. Ув. 400. E – новообразованные гемокapилляры (↑), макрофагальная инфильтрация частиц АБ в мышечной ткани через 5 суток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400. F – фагоцитарный макрофаг в мышечной ткани через 5 суток. Электронограмма. Ув. 12000. G – сосудисто-нервный пучок через 21 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100. H – скелетная мышечная ткань через 21 сутки. Окраска по Ван-Гизону. Ув. 200.

Fig. 2. The restored structure of the hind limb muscle tissue after AB application. A – hemocapillary in muscle tissue in 5 days. Electronogram. Magnification 10000. B – regular transverse striation of muscle fibers, accumulations of mitochondria (↑) in muscle tissue in 5 days. Electronogram. Magnification 15000. C – chains of muscle nuclei in muscle tissue in 5 days. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 200. D – proliferation of nuclei of muscle cells in muscle tissue in 5 days (↑). Indirect immunoperoxidase detection of PCNA with finishing hematoxylin staining. Magnification 400. E – newly formed hemocapillaries (↑), macrophage infiltration of AB particles in muscle tissue in 5 days. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 400. F – phagocytic macrophage in muscle tissue in 5 days. Electronogram. Magnification 12000. G – vascular-nerve bundle in 21 days. Stained with hematoxylin and eosin. Magnification 100. H – skeletal muscle tissue in 21 days. Van Gieson staining. Magnification 200.

полигональные профили. Мышечные волокна плотно прилегали друг к другу. Морфология сосудисто-нервного пучка была без особенностей. Признаков отека нервных волокон и сосудистой стенки не обнаруживалось. Просвет сосудов свободный (рис. 2G). Явления фиброза или избыточного отложения коллагена отсутствовали (рис. 2H).

При исследовании толерантной нагрузки в опытной группе длительность плавания крыс превышала аналогичный показатель контрольной группы в течение всего периода наблюдения и оставалась статистически значимой ( $p < 0,04$ ). Анализируя количество мышечных волокон на поперечных срезах мышц в обеих экспериментальных группах, через 5 суток различия были не значительны. Но спустя 21 сутки после применения АБ количество мышечных волокон оказалось значимо ( $p < 0,0001$ ) выше, чем на 5-й день в аналогичной группе и по сравнению с контролем в отдаленный период (21-е сутки). В основной группе отмечено снижение уровня численности некротизированных волокон через 5 суток по сравнению с контролем. Такая же тенденция сохранялась и через 21 сутки, когда снижение численности некротизированных волокон в основной группе также оказалось значимым по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,04$ – $0,006$ ). Площадь поперечного сечения мышечных волокон в контрольной группе как в ранние, так и в отдаленные сроки не имела статистически значимых различий ( $p > 0,56$ ). В опытной группе площадь поперечного сечения, существенно уменьшалась к 21-м суткам (табл. 1).

Таким образом, в контрольной группе экспериментальных животных после вынужденной физической нагрузки и применения физиологического раствора как в ранние, так и в отдаленные сроки обнаруживались признаки дистрофических изменений мышечных волокон, выражающиеся в контрактурах III, IV степеней, нарушении микроциркуляции. Также, наблюдались признаки мозаичного некроза мышечных волокон, воспалительно-

клеточная инфильтрация. Через 21 сутки происходило разрастание коллагеновых волокон – периваскулярный и интерстициальный фиброз.

Внутримышечная имплантация АБ способствовала рабдомиогенезу уже в ранние сроки наблюдений (через 5 суток), гиперплазии мышечных волокон, снижению численности некротизированных мышечных волокон, ингибированию фиброза, повышению толерантной нагрузки. А сам биоматериал подвергался биodeградации макрофагами и через 21 сутки не обнаруживался. Структура мышечной ткани была без признаков альтерации.

Скелетные мышцы обладают высокой регенераторной способностью после повреждения. Регенерация скелетных мышц характеризуется интенсивным ремоделированием внеклеточного матрикса и внутриклеточных белковых фибрилл, которые поддерживаются согласованной регуляцией баланса синтеза и деградации белков [17].

В контрольной группе вынужденная изнуряющая физическая нагрузка в аэробных условиях приводила к нарушениям мышечного гомеостаза: контрактурным повреждениям и к необратимой деструкции миосателлитцитов – некрозу. Ультрaструктурно определялись признаки чрезмерной деформации саркомера, приводящие к разрушению клеточных мембран и повреждению миофибрилл. Разрушения также затрагивали Z-диски, которые являются саркомерным якорем для структурной целостности мышц. Таким образом, при легкой форме травмы Z-диски выглядят волнистыми с небольшой миофибриллярной деструкцией. В более тяжелых случаях сообщается о разрушении Z-дисков, их утолщении, фокальной потере и смещении в соседний саркомер, что наблюдалось в данном исследовании. Эти изменения, как правило, сопровождаются нарушением других элементов цитоскелета, миофиламентов и т.д. [8]. Пересокращения вызывают сегментарную и быструю потерю промежуточных филаментов



Таблица 1 / Table 1

**Морфофункциональные характеристики скелетных мышц и результаты толерантной нагрузки (Me [Q25; Q75])****Morpho-functional features of skeletal muscles and results of tolerant load**

Показатели	Сроки			
	5-е сутки		21-е сутки	
	Экспериментальные группы			
	опыт	контроль	опыт	контроль
Время плавания, мин.	1,70 [1,46; 2,01]	1,0 [0,62; 1,14]	1,88 [1,88; 2,02]	1,47 [1,37; 1,56]
Общее количество мышечных волокон (ув. 400)	41,5 [31; 48,5]	46,5 [42; 57,5]	88 [75; 92]	65.5 [56; 77]
Численность некротизированных мышечных волокон (ув. 40)	1 [0; 2]	3 [1; 4]	0 [0; 1]	2 [1; 3]
Площадь поперечного сечения мышечного волокна, мкм <sup>2</sup>	1661,1 [1287,5; 1877]	1354,5 [856,5; 1702,0]	748,3 [611; 833]	1417,2 [1214; 1665]

десмина, разрушение саркомера, элементов цитоскелета и сарколеммы, набухание митохондрий, смещение органелл, что приводит к снижению генерации силы [18]. Сарколемма передает силу и подвергается значительной нагрузке во время сокращений. Сарколемма связана с сократительным аппаратом, ассоциированным с мембраной цитоскелета, который содержит белки, участвующие в передаче силы [15, 19]. Таким образом распад мышечных волокон и последующие воспалительные реакции влияют на длительность времени плавания, сокращая ее.

Определялись признаки накопления продуктов обмена, снижение энергетических ресурсов, кровоизлияния, целлюлярный, межтучный и периваскулярный отеки. Определялись признаки асептического воспаления, которое приводило к активации фибробластических клеток. Вследствие этого, исходом локомоторной активности явился фиброз. Скорость синтеза белка должна преобладать над деградацией в течение длительного периода времени, прежде чем станет очевидной гипертрофическая реакция [11]. В контрольной группе все происходило наоборот. Показатели численности некротизированных волокон превосходят данные опытной группы как в ранний срок, так и в отдаленном периоде.

Повышение работоспособности, наблюдавшееся в условиях применения аллогенного биоматериала в виде усиления локомоторной толерантной нагрузки, является подтверждением ускорения адаптационных возможностей экспериментальных животных, которые явились результатом раннего восстановления структуры всего миосимпласта. АБ служит хемотактантом макрофагов с последующей деградацией и его утилизацией. Продуктами деструкции АБ являются коллаген, протеогликаны и гликопротеины [5]. Известно, что в ответ на имплантацию биоматериала мигрируют макрофаги М1. Они обладают провоспалительной направленностью и, как следствие, активной фагоцитарной деятельностью [10].

Также, выявляемые признаки неоангиогенеза как в текущем исследовании, так и в более ранних работах, могут служить причиной компенсирования оксидативного стресса, инициированного изнуряющей физической нагрузкой, повреждением кровеносных сосудов, воспалением. В свою очередь, продукты обмена, раневой и клеточный детрит обладают антигенными свойствами и инициируют развитие иммунного воспаления [9]. В основной группе раневой дебрис утилизируется макрофагами в ранние сроки, цитоскелет восстанавливался, определялись признаки миогистогенеза как за счет гипертрофии, так и в следствие клеточного рабдомиогенеза – активации миосателлитов. Известно, что макрофаги и миосателлиты находятся в тесном взаимодействии друг с другом. Ингибирование миграции и/или исключение макрофагов инактивирует деятельность миосателлитов [14]. Этот вывод вытекает из подтвержденного статистически значимого увеличения числа общего количества мышечных волокон, которое практически в два раза превосходило аналогичный показатель в контрольной группе на 21-е суток в условиях применения АБ. Можно предположить, что адаптационный механизм к нагрузкам мог также осуществляться за счет гипертрофии мышц. Это подтверждается данными об увеличении площади поперечного сечения мышечного волокна, общей численности мышечных волокон и пролиферативной активности мышечных ядер. Так, элиминация раневого детрита и иммунная актопротекция является более эффективной под влиянием индуцированных АБ макрофагов. Помимо полноценной утилизации клеточного дебриса, которая осуществляется через систему мононуклеарных фагоцитов, аллогенный биоматериал выполняет роль ингибитора фиброза при заживлении ран воспалительно-деструктивного характера. Известно, что доминирующее влияние провоспалительных М1-макрофагов, активированных продуктами биодegradации аллогенного биоматериала,

содействует эффективной элиминации раневого детрита и очищению раны [10]. А ингибирование миграции М2-макрофагов, несущих профиброгенный спектр ростовых факторов и цитокинов, вызывает пролонгирование провоспалительной фазы заживления и смещение профиброгенной. Это содействует инактивации фибробластических клеток, и, следовательно, индукции элементов мышечной ткани [2, 4].

### Заключение

Наше исследование показало, что в скелетной мышечной ткани бедренных и икроножных мышц наибольшие патологические изменения выявлены у животных, подвергавшихся изнурительной физической нагрузке без использования аллогенного биоматериала. В скелетной мышечной ткани наблюдались признаки выраженной реакции сосудистого русла – дилатация сосудов и набухание сосудистой стенки, периваскулярный отек и стаз крови, а также контрактуры III и IV степени и фрагментация мышечных волокон. На месте некротически измененных мышечных волокон обнаруживалась выраженная воспалительно-клеточная инфильтрация и развивался фиброз, что относится к необратимым дистрофическим изменениям. В группе животных после физической нагрузки и введения аллогенного биоматериала в ранний период патологических изменений было значительно меньше. Уменьшалась воспалительно-клеточная инфильтрация, восстанавливалась полигональность профилей мышечных волокон, нивелировались отежные явления, сокращалось число некротизированных миоимплантов. Причем, бедренная мышца по сравнению с икроножной претерпевала более выраженные патоморфологические изменения как в опытной, так и в контрольной группах. Следовательно, аллогенный биоматериал в указанной дозе, стимулирует физиологический миогенез и может быть признан эффективным корректором патоморфологических изменений воспалительно-деструктивного характера в скелетной мышечной ткани.

### Список источников / References

1. Директива Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сент. 2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей [Электронный ресурс]. Гарант: информационно-правовое обеспечение. <http://base.garant.ru/70350564/ce210ed70e5dae1ed719396b4dabe87>.  
Direktiva Evropeiskogo parlamenta i Soveta Evropeiskogo Soyuzha 2010/63/ES ot 22 sent. 2010 g. o zashchite zhivotnykh, ispol'zuyushchikhsya dlya nauchnykh tselei [Elektronnyi resurs]. Garant: informatsionno-pravovoe obespechenie. <http://base.garant.ru/70350564/ce210ed70e5dae1ed719396b4dabe87> (In Russ.).
2. Лебедева А.И. Аллогенный губчатый биоматериал - индуктор миосателлитоцитов в поврежденной скелетной мышце. Успехи современной биологии. 2016;136(3):276–84.  
Lebedeva AI. Allogeneic spongy biomaterial is an inducer of myosatellitocytes in damaged skeletal muscle. *Advances in modern biology*. 2016;136(3):276–84. (In Russ.).
3. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С. Роль макрофагов в регенерации мышечных тканей, индуцированных аллогенным биоматериалом. Российский иммунологический журнал. 2019;13(22):849–51.  
Lebedeva AI, Muslimov SA, Afanasiev SA, Kondratieva DS. The role of macrophages in the regeneration of muscle tissues induced by allogeneic biomaterial. *Russian Journal of Immunology*. 2019;13(22):849–51. (In Russ.).
4. Мусина Л.А., Шакиров Р.Ф., Галимова В.У., Шангина О.Р., и др. Биоматериал "Аллоплант" как ингибитор рубцевания поврежденной роговицы (иммуногистохимическое исследование). Практическая медицина. 2019;17(1):112–116.  
Musina LA, Shakirov RF, Galimova VU, Shangina OR, et al. Biomaterial "Alloplant" Biomaterial as the Inhibitor of Scarring the Damaged Cornea (Immunohistochemical Study). *Practical medicine*. 2019;17(1):112–116. (In Russ.).
5. Муслимов С.А. Морфологические аспекты регенеративной хирургии. Уфа: Башкортостан; 2000.  
Muslimov SA. *Morfologicheskie aspekty regenerativnoi khirurgii*. Ufa: Bashkortostan; 2000. (In Russ.).
6. Шурыгин М.Г., Болбат А.В., Шурыгина И.А. Миосателлиты как источник регенерации мышечной ткани. Фундаментальные исследования. 2015;1(8):1741–6.  
Shurygin M.G., Bolbat A.V., Shurygina I.A. Myosatellites as a source of muscle tissue regeneration. *Basic research*. 2015;1(8):1741–6. (In Russ.).
7. Шустов Е.Б., Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Станкова Н.В., и др. Гипоксия физической нагрузки: изучение у человека и лабораторных животных. Биомедицина. 2014;4:4–16.  
Shustov EB, Karkishchenko NN, Karkishchenko VN, Kapanadze GD, Stankova NV, et al. Hypoxia of Physical Activity: Studying at the Athletes and Laboratory Animals. *Biomedicine*. 2014;4:4–16. (In Russ.).
8. Байдук Е.В., Соболев В.Е., Корф Е.А., Игор Миндуков, Кривченко А.И., Гончаров Н.В. Ultrastructural Characteristics of Slow and fast twitch Muscle Fibers of Rats after a Forced Swimming Cycle against a Background of Introduction of Green Tea Extract and Ammonium Salts. *Cell and Tissue Biology*. 2020 Jan 1;14(1):65–73. doi: 10.1134/S1990519X20010022
9. Canton J, Blees H, Henry CM, Buck MD, Schulz O, Rogers NC, et al. The receptor DNGR-1 signals for phagosomal rupture to promote cross-presentation of dead-cell-associated antigens. *Nature Immunology*. 2020 Dec 21;22(2):140–53. doi: 10.1038/s41590-020-00824-x

10. Chazaud B. Inflammation and Skeletal Muscle Regeneration: Leave It to the Macrophages! *Trends in Immunology*. 2020 Jun 1;41(6):481–92. doi: 10.1016/j.it.2020.04.006
11. Damas F, Phillips SM, Libardi CA, Vechin FC, Lixandrão ME, Jannig PR, et al. Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage. *The Journal of Physiology*. 2016 Jul 9;594(18):5209–22. doi: 10.1113/JP272472
12. Drew MK, Finch CF. The Relationship Between Training Load and Injury, Illness and Soreness: A Systematic and Literature Review. *Sports Medicine*. 2016 Jan 28;46(6):861–83. doi: 10.1007/s40279-015-0459-8
13. Friction J. Myofascial Pain. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*. 2016 Aug;28(3):289–311. doi: 10.1016/j.coms.2016.03.010
14. Kloc M, Uosef A, Ubelaker HV, Kubiak JZ, Ghobrial RM. Macrophages and stem/progenitor cells interplay in adipose tissue and skeletal muscle: a review. *Stem Cell Investig*. 2023 Jan 1;10:10–9. doi: 10.21037/sci-2023-009
15. Korf EA, Kubasov IV, Vonsky MS, Novozhilov AV, Runov AL, Kurchakova EV, et al. Ultrastructural and gene-expression changes in the calcium regulation system of rat skeletal muscles under exhausting exercise. *Cell Tiss Biol*. 2017 Sep 1;(11):371–80. doi: 10.1134/S1990519X17050030
16. Lieber RL, Fridén J. Mechanisms of muscle injury gleaned from animal models. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*. 2002 Nov 1;81(11):S70–79. doi: 10.1097/00002060-200211001-00008
17. Okada A, Ono Y, Nagatomi R, Kishimoto KN, Itoi E. Decreased muscle atrophy F-box (MAFbx) expression in regenerating muscle after muscle-damaging exercise. *Muscle & Nerve*. 2008 Oct;38(4):1246–53. doi: 10.1002/mus.21110
18. Qaisar R, Bhaskaran S, Van Remmen H. Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration. *Free Radical Biology and Medicine*. 2016 Sep;98:56–67. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.025
19. Zhang C, Gao Y. The role of transmembrane proteins on force transmission in skeletal muscle. *Journal of Biomechanics*. 2014 Sep;47(12):3232–3236. doi: 10.1016/j.jbiomech.2014.07.014

#### Информация об авторах

✉ Лебедева Анна Ивановна – д-р биол. наук, старший науч. сотр., зав. отделом морфологии Башкирского государственного медицинского университета; ул. Ленина, 3, Уфа, 450008, Россия; jeolo2@mail.ru  
<https://orcid.org/0009-0002-9170-2600>  
 Гареев Евгений Мусинович – старший научн. сотр. отдела нейрофизиологии Башкирского государственного медицинского университета; jeolo2@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-6561-0892>  
 Сироткина Инна Владимировна – научный сотрудник отдела нейрофизиологии Башкирского государственного медицинского университета; jeolo2@mail.ru  
 Галаутдинов Марс Фларитович – научный сотрудник отдела нейрофизиологии Башкирского государственного медицинского университета; jeolo2@mail.ru

#### Information about the authors

✉ Anna I. Lebedeva – Doct. Sci. (Biol.), senior researcher, head of morphology department of Bashkir State Medical University; ul. Lenina, 3, Ufa, 450008, Russia; jeolo2@mail.ru  
<https://orcid.org/0009-0002-9170-2600>  
 Evgenii M. Gareev – senior researcher of neurophysiology department of Bashkir State Medical University; jeolo2@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-6561-0892>  
 Inna V. Sirotkina – researcher of neurophysiology department of Bashkir State Medical University; jeolo2@mail.ru  
 Mars F. Galautdinov – researcher of neurophysiology department of Bashkir State Medical University; jeolo2@mail.ru

Статья поступила в редакцию 29.09.2022; одобрена после рецензирования 5.06.2023; принята к публикации 26.06.2023.  
 Submitted 29.09.2023; Revised 5.06.2023; Accepted 26.06.2023.