

В. Т. Стефанович, И. В. Шестель

**ПАРАМЕТРЫ ЭПИТЕЛИЗАЦИИ ТРАХЕИ С ПРИМЕНЕНИЕМ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОЙ
ВЫСТИЛКИ ЧЕЛОВЕКА**

Научный руководитель канд. мед. наук, доц. С. А. Гузов,

Кафедра патологической анатомии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

**УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро», г. Минск*

Резюме. В статье приведены данные, характеризующие ткань трахеи в процессе эпителизации как с применением стволовых клеток обонятельной выстилки человека, так и без их применения на разных сроках. Изучалась степень эпителизации и такие характеристики инфильтрации, как ее интенсивность, форма (по коэффициенту элонгации), размер ядер. Установлен оптимальный метод эпителизации.

Ключевые слова: эпителизация, мезенхимальные стволовые клетки обонятельной выстилки человека, инфильтрация, метаплазия, фиброз, язва.

Resume. The article presents the data characterizing the tissue in the trachea as the epithelialization using stem cells of human olfactory mucosa, with or without their application in different terms. We studied the degree of epithelialization and infiltration characteristics such as its intensity, the form (at a rate of elongation), the size of the nuclei. The optimal method of epithelialization.

Keywords: epithelialization, mesenchymal stem cells of human olfactory mucosa, infiltration, metaplasia, fibrosis, ulcer.

Актуальность. Несмотря на достигнутые успехи в лечении хронических рубцово-грануляционных стенозов гортани и трахеи данная проблема по-прежнему остается актуальной в оториноларингологии.

Причинами возникновения первичных стенозов являются травмы, опухоли, химические и термические ожоги, механические повреждения слизистой во время анестезиологических и реанимационных мероприятий с применением интубации, трахеостомии и др. На данный момент механизмы и внешние факторы, способствующие хронизации стенозов, полностью не установлены. Современные подходы лечения, направленные на восстановление структурной целостности и функциональной активности слизистой оболочки при стенозах, включают физиотерапевтические, лазерные, хирургические методы в сочетании с медикаментозной терапией (использованием антибиотиков, стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов, биостимуляторов, витаминов).

Недостатками данных способов лечения являются их длительность, инвазивность, травматичность, в некоторых случаях краткосрочность эффекта, необходимость проведения повторных вмешательств, высокая стоимость стационарного ухода.

В связи с этим, важной медико-социальной задачей остается поиск и разработка альтернативных подходов, которые позволили бы предупредить рецидивирование и хронизацию стенозов, снизить стоимость реабилитации и социальной адаптации пациентов.

Для лечения дефектов слизистой верхних дыхательных путей перспективным направлением может стать проведение клеточной терапии на основе биопрепаратов стволовых и прогениторных клеток [3]. С точки зрения доступности и возможности накопления биомассы *in vitro* весьма перспективным клеточным материалом являются тканеспецифичные мезенхимальные стволовые клетки обонятельной выстилки (МСК ОВ) человека [1]. На данный момент терапевтический потенциал МСК ОВ подтвержден экспериментальными результатами при лечении ряда различных заболеваний. Данный тип клеток обладает иммуносупрессивными свойствами, которые могут способствовать снижению интенсивности хронических воспалительных процессов при стенозах[2].

Таким образом, целью настоящего исследования явилась экспериментальная оценка эффективности клеточной терапии смоделированных у животных (собаки) стенозов гортани и трахеи при трансплантации биопрепаратов на основе культивируемых МСК ОВ человека.

Цель: Определить и изучить морфологические и морфометрические параметры новообразованной ткани в процессе эпителизации трахеи в условиях применения мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки (МСК ОВ) и без их применения на разных сроках.

Задачи:

1. Определить степень эпителизации на разных этапах.
2. Проследить изменение морфометрических параметров на разных периодах эпителизации.
3. Определить степень лимфоцитарной инфильтрации и ее выраженность в зависимости от степени эпителизации и вида дефекта регенерации.
4. Выявить, каким образом применение стволовых клеток влияет на степень эпителизации и воспалительной инфильтрации в раневых дефектах.

Материал и методы. Исследования проводились на цифровых фотографиях размером 640×480 пикселей, полученных с помощью системы "микроскоп-TV-камера", которые впоследствии обрабатывались в программе Scion Image 4.0.2. Статистический анализ проводился с помощью пакета "Анализ данных" программы MS Office2010 Excel. Измерялись такие кариометрические параметры клеток инфильтрата, как плотность инфильтрации (измерения проводились на трех участках площадью 200X200 пегапикселей с визуально наибольшей, наименьшей и

промежуточной плотностью инфильтрации), площадь ядер, коэффициент элонгации. В качестве объекта исследования использовались снимки с микропрепаратов опыте в 5 недель (с применением стволовых клеток) и без стволовых клеток (контроль) и 9 месяцев (с применением стволовых клеток и без).

Результаты и их обсуждение. В контроле в 5 недель отмечалась полная эпителизация покрова, но эпителиальный слой был неравномерный (рисунок 1), толщина которого колебалась от 2-3 до 4-5 эпителиальных клеток. Имела место выраженная диффузно-очаговая воспалительная инфильтрация, как в поверхностных отделах, так и в глубоких слоях подслизистого слоя (рисунок 1). Нередко встречались участки плоскоклеточной метаплазии эпителия.

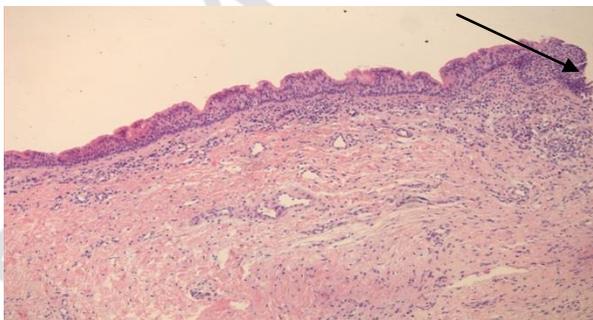


Рисунок 1 - Полная эпителизация покрова, неравномерное количество слоев эпителиальных клеток, участок плоскоклеточной метаплазии (стрелка). В подслизистом слое выраженная круглоклеточная воспалительная инфильтрация. Окраска гематоксилин и эозин. Ув. x 200

Заметный склероз подслизистого слоя отмечался в зонах с наиболее выраженным воспалением (рисунок 2). В ряде случаев, где воспалительные изменения были наиболее представлены, имелись язвенные дефекты, т.е. отсутствие эпителизации (рисунок 3). Здесь же отмечен наиболее заметный склероз подслизистого слоя.

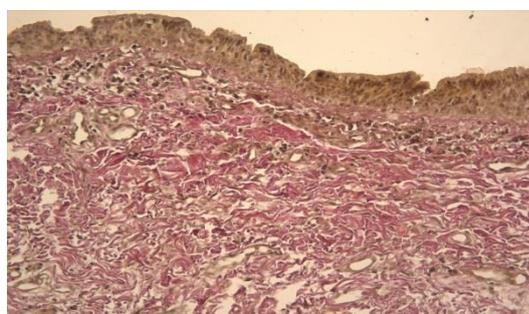


Рисунок 2 - Умеренный фиброз подслизистого слоя. Окраска по Ван-Гизону. Ув. x 200

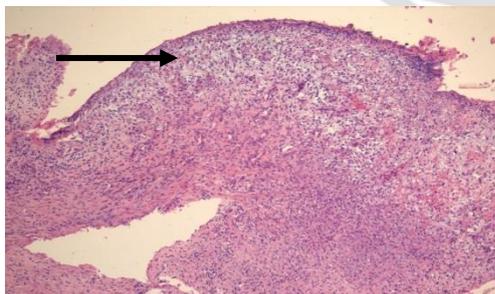


Рисунок 3 - Язвенный дефект (стрелка), выраженная воспалительная инфильтрация в подслизистом слое. Окраска гематоксилин и эозин. Ув. x 100

В опыте обращало на себя внимание хорошо представленная эпителизация покрова и слабовыраженная воспалительная инфильтрация в подлежащем слое (рисунок 4). В тоже время имелись участки повышенной эпителизации в виде гипертрофии переходного эпителия с достаточно заметной воспалительной инфильтрацией в подлежащем слое. Определялись зоны достаточно выраженного воспаления, что сопровождалось утолщением эпителиального слоя и даже его плоскоклеточной метаплазией. Имелись также участки неравномерной эпителизации как в виде её истончения, так и в виде полиповидной гиперплазии.

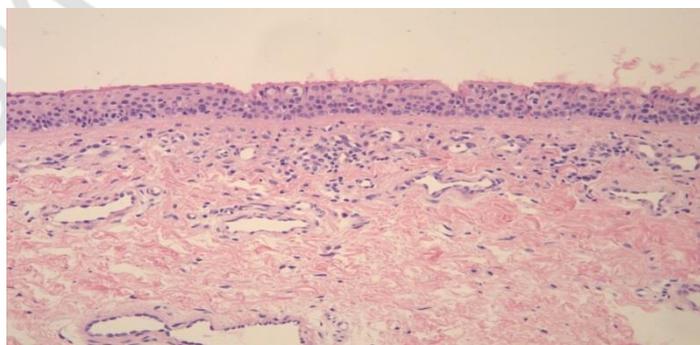


Рисунок 4 - Полная эпителизация покрова с образованием 3-4 слоев клеток с незначительной воспалительной инфильтрацией в подлежащей ткани. Окраска гематоксилин и эозин. Ув. x 200

Были проведены измерения некоторых кариометрических параметров. В результате получены следующие значения (таблица 1, 2, 3):

Таблица 1. Значения показателей для контроля – 5 недель

Контроль	плотность	площадь	Коэффициент элонгации
Язва	28 – 34	0,31 – 0,33	2,4
Эпителизация	25 – 31	0,58 – 0,65	2,16 – 2,3
Метаплазия	39 - 49	0,334 – 0,49	1,5 – 1,8

Таблица 2. Значения показателей для опыта – 5 недель

опыт	плотность	площадь	Коэффициент элонгации
Эпителизация	8 – 24	0,5 -0,58	2,2 – 2,5
Акантоз	28 – 30	0,44 – 0,48	1,4 – 1,6
Гипертрофия эпителия	21 - 25	0,47 – 0,49	1,6 – 1,8

Таблица 3. Значения показателей для контроля – 9 месяцев

Контроль	плотность	площадь	Коэффициент элонгации
Язва	30 – 32	0,30 – 0,35	2,2 – 2,6
Эпителизация	6 – 14	0,56 – 0,62	2,0 – 2,3
Метаплазия	46 – 50	0,35 – 0,46	1,5 – 2,1

Для опыта (9 месяцев) характерна равномерная эпителизация, небольшие очаги незначительной гипертрофии, отсутствие язвенных дефектов (инфильтрация 2 – 8; размер – 0,52 – 0,6, коэффициент элонгации – 1,5 – 2,7).

Выводы:

1 Эпителизация на сроке в 5 недель равномерная, но имеются участки метаплазии, язвенные дефекты. На сроке в 9 месяцев отмечается полная эпителизация.

2 На сроке в 5 недель воспалительная инфильтрация более выражена по сравнению с 9 месяцами. Четкой закономерности в изменении морфометрических параметров по срокам не выявлено.

3 С увеличением срока эпителизации инфильтрация уменьшается, в опыте это более выражено. При дефектах эпителизации инфильтрация более выражена.

4 Участки эпителизации с применением МСК ОБ характеризуются равномерной эпителизацией, присутствуют лишь незначительный участки гипертрофии.

V. T. Stsefanovich, I. V. Shestel

USING MESENCHYMAL STEM CELL TRANSPLANTATION IN THE THERAPY OF TRACHEAL INJURY

Tutor Associate professor S. A. Guzov

Department of Pathological Anatomy,

Belarusian State Medical University, Minsk

**City clinical pathology bureau, Minsk*

Литература

1. Викторов И.В., Савченко Е.А., Ухова О.В., Алексеева Н.Ю., Чехонин В.П. Мультипотентные стволовые и прогениторные клетки обонятельного эпителия. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2006; №4: 185-193.

2. Викторов И.В., Сухих Г. Т. Медико-биологические аспекты применения стволовых

клеток. Вестник РАМН. 2002; №4: 24-30.

3. Carter L.A., MacDonald J.L., Roskams A.J. Olfactory horizontal basal cells demonstrate a conservative multipotent progenitor phenotype. J. Neurosci. 2004; 24(25): 5670-5683.

Репозиторий БГМУ