

В. Т. Стефанович

**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.

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.

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. 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]. Данный тип клеток обладает иммуносупрессивными свойствами, которые могут способствовать снижению интенсивности хронических воспалительных процессов при стенозах [2].

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.

Материал и методы. Проводилось изучение микропрепаратов эпителизации трахеи и гортани на разных сроках (2 недели, 5 недель, 9 месяцев). На сроке в 9 месяцев проводилось изучение методов эпителизации с применением МСКОВ человека на полилактидной пленке и в суспензии. 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.

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.

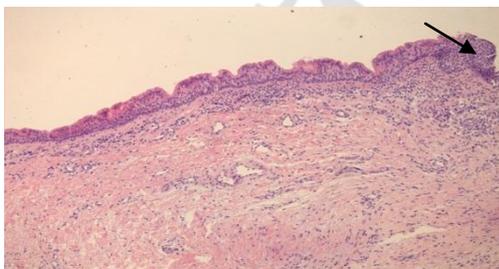


Рисунок 1 - Полная эпителизация покрова, неравномерное количество слоев эпителиальных клеток, участок плоскоклеточной метаплазии (стрелка). Окраска гематоксилин и эозин. Ув. x 200

В опыте обращало на себя внимание хорошо представленная эпителизация покрова и слабовыраженная воспалительная инфильтрация в подлежащем слое (рисунок 2). 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.

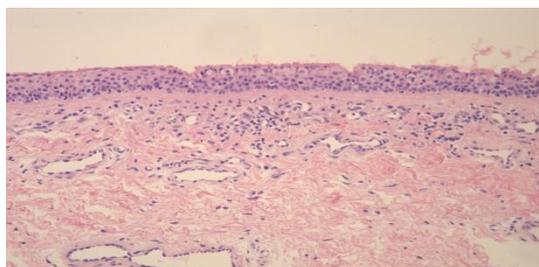


Рисунок 2 - Полная эпителизация покрова с образованием 3-4 слоев клеток с незначительной воспалительной инфильтрацией в подлежащей ткани. Окраска гематоксилин и

При изучении эпителизации измерялись и изучались такие параметры, как площадь ядер, коэффициент элонгации, плотность хроматина; построены гистограммы распределения значений данных параметров. Значения площади ядер для контроля целиком подчиняются закону нормального распределения; для опыта с применением полилактидной пленки сохраняется соответствие, но имеется незначительный сдвиг в сторону увеличения числовых значений. Для опыта с применением суспензии клеток распределение характеризуется наибольшим разнообразием, что свидетельствует об образовании более разнородной группы ядер эпителиоцитов. Для значений коэффициента элонгации значительной разности в распределениях не выявлено, только в опыте с пленкой параметр стремится к большим значениям. При анализе гистограмм плотности хроматина прослеживается закономерность: распределение величин в опыте с суспензией клеток является нормальным, в опыте с пленкой распределение отклоняется от нормального, приближаясь к большим величинам; распределение контрольных параметров занимает промежуточное место по приближенности к нормальному. Исходя из этого, можно предположить, что при использовании суспензии клеток, эпителизация будет более правильной, так как согласно содержанию генетического материала, образованы адекватные группы.

В ходе анализа регенерации эпителия с помощью различных методик было выявлено, что на участках с разным состоянием эпителизации изменяется и количество подлежащего инфильтрата. Для определения наличия или отсутствия связи между этими составляющими регенерации изучались участки с различной плотностью ядер эпителиоцитов, оценивалась степень васкуляризации в опытных и контрольных образцах. В ходе анализа полученных данных выявлена зависимость в опыте с использованием суспензии клеток - между плотностью/формой инфильтрата и плотностью ядер эпителиоцитов существует прямая линейная зависимость – с увеличением плотности/вытянутости инфильтрата возрастает плотность ядер эпителия. Это является весомым аргументом в пользу того, что использование суспензии стволовых клеток для лечения язвенных дефектов и стенозов требует адекватной противовоспалительной терапии, чтобы избежать гипертрофических и метапластических изменений эпителия (метаплазия в этом опыте чаще всего наблюдается в очагах сосочковых разрастаний).

Заключение. Применение МСКОВ человека вызывает положительную динамику регенерации эпителия. Согласно полученным данным, наиболее результативный метод применения - суспензия клеток. При данном способе нарушения эпителизации минимальны, но необходима адекватная противовоспалительная терапия.

Информация о внедрении результатов исследования. По результатам настоящего исследования опубликована статья в сборнике материалов, 1 тезисы докладов, получен акт внедрения в образовательный процесс (кафедра патологической анатомии БГМУ).

«Студенты и молодые учёные Белорусского государственного медицинского университета –
медицинской науке и здравоохранению Республики Беларусь»

V. T. Stsefanovich

**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. Мультипотентные стволовые и прогениторные клетки обонятельного эпителия. / И.В. Викторов, Е.А. Савченко, О.В., Ухова и др. // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2006; №4: С. 185-193.

2. Викторов И.В., Сухих Г. Т. Медико-биологические аспекты применения стволовых клеток. Вестник РАМН. 2002; №4: 24-30.

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