

*Н. А. Недзьведь*

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ТЕРАПИИ СТЕНОЗОВ ТРАХЕИ И ГОРТАНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

*Научные руководители: канд. мед. наук, доц. С. А. Гузов*

*Кафедра патологической анатомии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*N. A. Nedzvedz*

**MORPHOLOGICAL RESULTS OF STEM CELLS TREATMENT IN TRACHEA AND LARYNX STENOSIS TREATMENT**

*Tutors: assistant professor S. A. Guzov*

*Department of Pathological Anatomy*

*Belarussian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** Данная работа посвящена морфологической оценке эффективности терапии стволовыми клетками при лечении стенозов гортани и трахеи по сравнению с лечением традиционными методами в эксперименте.

**Ключевые слова:** гортань, трахея, терапия стволовыми клетками, мезенхимальные стволовые клетки обонятельной выстилки.

**Resume.** This study is dedicated to morphological analysis of stem cells therapy efficiency of trachea and larynx stenosis treatment in comparison to traditional methods treatment in experiment.

**Keywords:** larynx, trachea, stem cells therapy, olfactory lining mesenchymal stem cells.

**Актуальность.** Причинами возникновения первичных стенозов являются травмы, опухоли, ожоги, механические повреждения слизистой во время анестезиологических и реанимационных мероприятий. В настоящее время для лечения стенозов гортани используются методы, направленные на восстановление структурной целостности и функциональной активности слизистой оболочки: физиотерапевтические, лазерные, хирургические методы в сочетании с медикаментозной терапией. Однако они имеют ряд недостатков, таких как: длительность, инвазивность, травматичность, краткосрочность эффекта, необходимость проведения повторных вмешательств, высокая стоимость стационарного ухода.

**Цель:** провести морфологический анализ эффективности терапии стволовыми клетками стенозов гортани и трахеи в эксперименте по сравнению с лечением традиционными методами.

**Задачи:**

1. Провести морфологический анализ опытных и контрольных препаратов трахеи и гортани в эксперименте.
2. Провести анализ степени регенерации и состояния слизистого и подслизистого слоя контрольных и опытных препаратов.
3. Сравнить эффективность проведенного лечения с использованием трансплантации стволовых клеток и традиционных методов лечения в эксперименте.

**Материал и методы.** Ранее, сотрудниками БГМУ, БелМАПО и Института биофизики и клеточной инженерии НАН РБ было проведено исследование, задачами ко-

того были:

1. Разработать схему клеточной терапии стенозов гортани у экспериментальных животных. В качестве экспериментальных животных были взяты собаки.

2. Провести культивацию мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки.

3. Создать экспериментальную модель повреждений слизистой и гортани.

4. Провести трансплантацию биомедицинского клеточного продукта с использованием стволовых клеток и дать оценку её клинической эффективности. Трансплантацию проводили 2-мя способами: в виде суспензии клеток в фосфатном буфере и в виде клеточной композиции из МСК ОВ (мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки) на полилактидной пленке. В качестве контроля использовали фосфатный буфер и полилактидную пленку без клеток. Через 1, 2, 3 и 5 недель, 7–9 месяцев после трансплантации выполняли интраоперационный осмотр ран и забор участка ткани из области экспериментального дефекта (контроль и опыт) для последующего гистологического анализа.

### **Результаты и их обсуждение.**

По времени забора ткани из экспериментального дефекта препараты можно разделить на краткосрочный (1, 2 и 3 недели) и долгосрочный периоды (5 неделя, 7-9 месяцев).

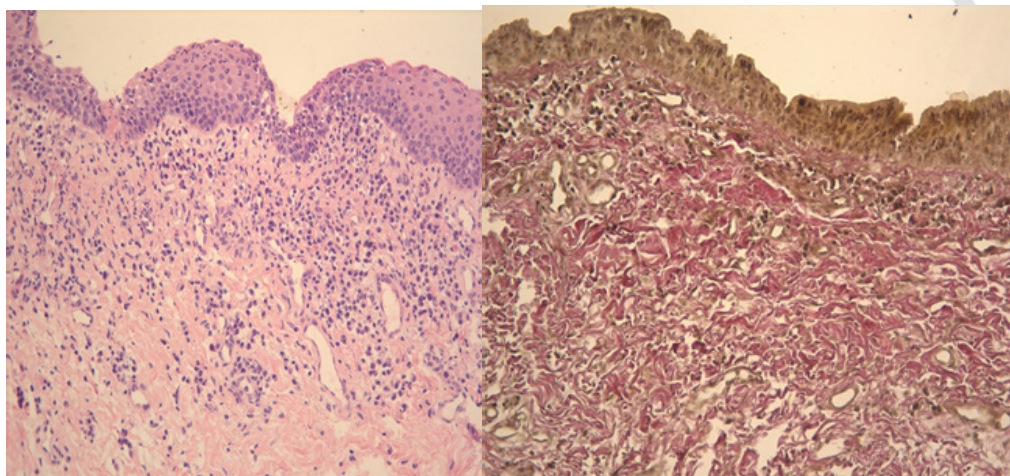
В краткосрочном периоде значимых отличий между опытными и контрольными препаратами найдено не было.

На 7 день наблюдались признаки краевой эпителизации зоны дефекта, а именно мелкие единичные эпителизированные очажки, зона экссудации раневого дефекта была очень узкая или отсутствовала, отмечалась узкая прерывистая полоса некроза, содержащая клеточный и волокнистый детрит, и зона кровоизлияний с умеренным отеком.

На 14-21 день определялись участки эпителизации, дно раневого дефекта замещалось грануляционной тканью с фибрином, эпителий с участками однорядного строения, эпителиоциты уплощенные, кариохромные, пикнотичные, краевой эпителий многорядный, плоский, в центральной части дефекта – однорядный призматический реснитчатый, с очаговой гиперплазией бокаловидных клеток.

В долгосрочном периоде различия между опытными препаратами были куда более выраженными. Кроме того, следует заметить, что в препаратах, в которых трансплантация проводилась как в виде суспензии клеток в фосфатном буфере, так и в виде клеточной композиции из МСК ОВ на полилактидной пленке, восстановление носило практически одинаковый характер.

В контрольных препаратах, на 5 неделю наблюдалась полная, но неравномерная эпителизация покрова с участками язвенных дефектов, участки плоскоклеточной метаплазии эпителия, выраженная диффузно-очаговая воспалительная инфильтрация, в зонах с наиболее выраженным воспалением склероз и фиброз подслизистого слоя (рисунок 1, 2).

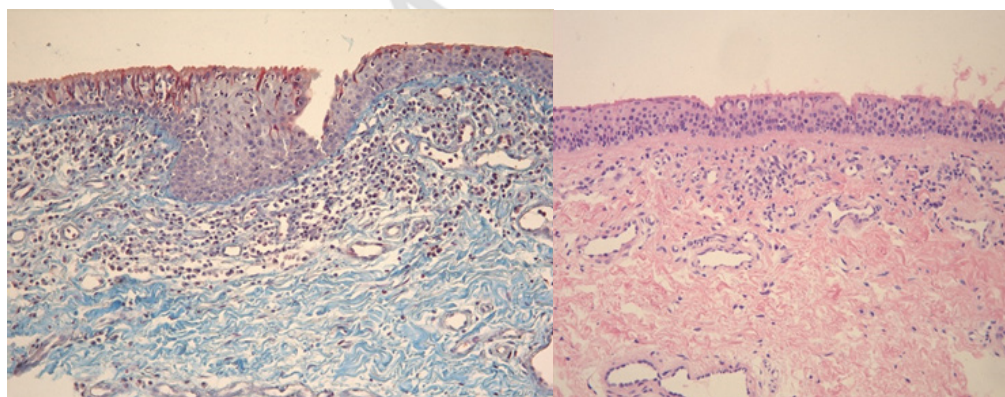


**Рис. 1** – 5 неделя, контрольные препараты. Окраска гематоксилин и эозин (А), по Ван Гизону (Б), x200

А) Язвенный дефект гортани. Грануляционная ткань и выраженное воспаление в подлежащих отделах дефекта.

Б) Фиброз подслизистого слоя.

В опытных препаратах на 5 неделю наблюдались хорошо представленная эпителизация покрова, воспалительная инфильтрация слабовыраженная, по сравнению с контрольными препаратами, кроме того имелись участки повышенной эпителизации: гипертрофия переходного эпителия (рисунок 2).



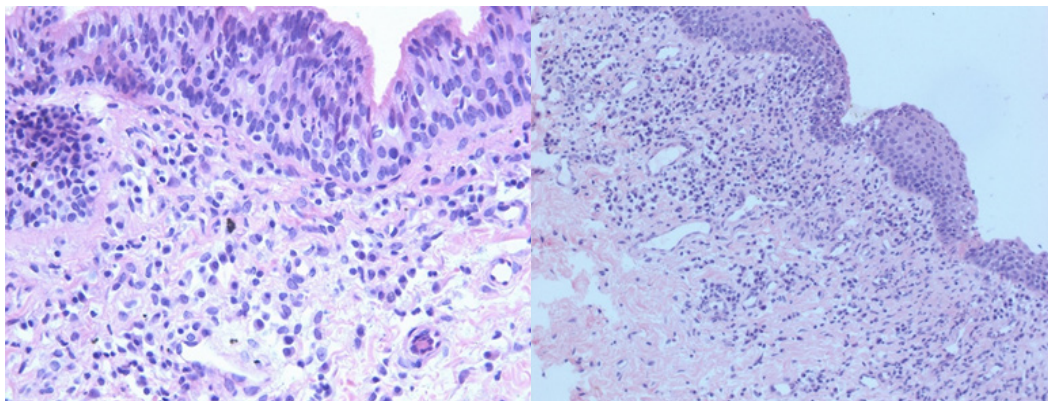
**Рис. 2** – 5 неделя, опытные препараты. Окраска MSB (а), гематоксилин и эозин (б), x200

А) Неравномерная эпителизация с образованием многорядного пласта

Б) Базальноклеточная гиперплазия в переходном эпителии глотки

На 9 месяц в контрольных препаратах полного восстановления целостности эпителиального покрова не наблюдалось, но отмечалась частичная неравномерная эпителизация покрова, местами наблюдалась плоскоклеточная метаплазия эпителия.

Кроме того, наблюдалась как умеренная, так и выраженная диффузно-очаговая воспалительная инфильтрация и заметный склероз и фиброз подслизистого слоя в зонах с наиболее выраженным воспалением (рисунок 3).

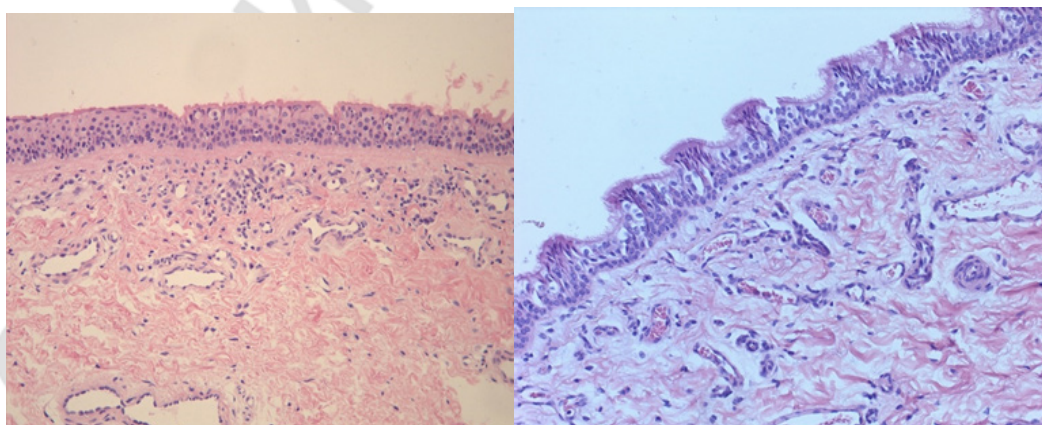


**Рис. 3** – 9 месяц, контрольные препараты. Окраска гематоксилин и эозин, x200

А) Трахея. Многорядность цилиндрического эпителия.

Б) Гортань. Неравномерное утолщение покровного эпителия, выраженное воспаление.

На 9 месяц в опытных препаратах наблюдалась хорошо выраженная эпителизация покрова, слабовыраженная воспалительная инфильтрация в подлежащем слое, местами встречались полипозные разрастания, что свидетельствует о повышенной регенерации. Еще раз заметим, что при сравнении восстановления при использовании трансплантации клеток на полиактидной пленке и суспензии клеток существенных различий найдено не было (рисунок 5).



**Рис. 5** – 9 месяц, опытные препараты. Окраска гематоксилин и эозин, x200

А) Гортань. Полная регенерация многорядного эпителия, незначительная воспалительная инфильтрация в подслизистом слое.

Б) Трахея. Участки полиповидной гиперплазии дефекта

#### **Выводы:**

1 При использовании терапии стволовыми клетками:

1.1 Отмечается полная регенерация эпителиального покрова трахеи и гортани. Редко определяются участки неравномерного утолщения эпителия

1.2 Воспалительная инфильтрация в подлежащей соединительной ткани представлена незначительно, заметных признаков фиброза не отмечается.

1.3 Восстановление целостной структуры слизистой выражено в большей степени по сравнению с контрольными животными

2 Лечение традиционными методами без применения стволовых клеток сопровождается неравномерным восстановлением эпителиального покрова, воспалительная инфильтрация выражена сильнее, чем в опытных образцах, в зонах с наиболее выраженным воспалением отмечается заметный фиброз подслизистого слоя.

#### Литература

1. Экспериментальная оценка эффективности клеточной терапии стенозов трахеи и гортани с применением мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки человека / В. Л. Чекан, Н.Г. Антоневиц, З. Б. Квачева и др. // Научные технологии и техника. – Минск 2018. – С. 45.

2. Иммунофункциональные свойства мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки человека / В. Л. Чекан, Н.Г. Антоневиц, З. Б. Квачева и др. // Известия Национальной Академии Наук. – 2015. – № 1. – С. 42–49.

3. Mesenchymal stem cell therapy for laryngotracheal stenosis: A systematic review of preclinical studies / Kathrine Kronberg Jakobsen, Christian Grønhøj, David H. Jensen, etc // Plos One – 2017 – P. 22-32.