

© Домбровський Д.Б., Оліник Ю.В., Пшиборовська Ю.Р., 2012

УДК 616-005.4-092.4:611.73:57.083

## КЛІТИННА ТРАНСПЛАНТАЦІЯ В ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА СУДИННУ ПАТОЛОГІЮ

*Д.Б.Домбровський, Ю.В.Оліник, Ю.Р.Пшиборовська*

*Кафедра хірургії (зав. – проф. І.Ю.Полянський) Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці*

**Резюме.** Проведені гістологічні та імуногістохімічні дослідження м'язової тканини (визначення експресії антитіл до фактора Віллебранда, колагену IV типу та віментину) у хворих з ішемією кінцівки після введення мультипотентних стромальних клітин власної жирової тканини. Показано зниження ішемічного ушкодження міофібрил, швидку активацію регенераторних сил м'яза. Імуногістохімічно виявлено стимуляцію процесів ангиогенезу через 3 місяці після трансплантації клітин.  
**Ключові слова:** хронічна ішемія, непряма реваскуляризація, жирова тканина.

Лікування хворих на хронічну ішемію кінцівок при оклюзійних та облітераційних ушкодженнях судин – одна із складних проблем судинної хірургії. Незадоволення хірургів існуючими методами лікування хронічної ішемії кінцівок змусило їх шукати нові засоби. Розвиток біотехнології, молекулярної та клітинної біології в останні роки зробив клітину засобом лікування багатьох захворювань [1], зокрема й хронічних ішемічних станів [2, 3] у поєднанні з шунтувальними операціями [4]. Майбутнє клітинної терапії та трансплантології пов'язане з використанням стовбурових клітин, які застосовуються для заміщення структурної та функціональної недостатності різноманітних органів [5].

**Мета дослідження:** вивчити гістологічні та імуногістохімічні зміни у м'язах ішемізованої кінцівки пацієнтів, хворих на облітераційні захворювання артерій, після трансплантації мультипотентних стромальних клітин власної жирової тканини.

**Матеріал і методи.** Розроблена технологія трансплантації мультипотентних стромальних клітин жирової тканини хворим на хронічну ішемію кінцівок. Перед трансплантацією та через 3 місяці після першої трансплантації отримували біопсійний матеріал м'язів ішемізованої кінцівки для гістологічних та імуногістохімічних досліджень. Застосовували загальногістологічний метод, який проводили за стандартною схемою. Тканини готували за загальноприйнятою

методикою. Після фіксації у формаліні та спиртах матеріал обробляли в парафінових блоках, зрізи фарбували гематоксиліном і еозином та пікрофуксином за методом ван Гізона. Для імуногістохімічного дослідження застосовували непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії антигенів віментину, фактора Віллебранда та колагену IV типу.

Методика трансплантації мультипотентних стромальних клітин жирової тканини застосована у 7 пацієнтів (чоловіків – 6, жінок – 1) з проявами хронічної ішемії нижніх кінцівок, у хворих на облітераційний ендартеріт (3 пацієнтів), облітераційний атеросклероз (2) та постемболічну оклюзію (2) артерій стегново-підкалінного сегмента. Середній вік хворих становив 42,5 роки. Обстеження хворих до операції включало доплерографію артерій, рентгеноконтрастну ангіографію, лазерну флуометрію мікроциркуляторного русла. У всіх хворих констатовано неможливість виконання реконструктивних хірургічних втручань на артеріальному руслі нижньої кінцівки. Трансплантацію клітин проводили внутрішньом'язово в межах ішемії у ділянках оклюзованих артерій.

**Результати дослідження.** При дослідженні м'язової тканини ішемізованої кінцівки до введення мультипотентних стромальних клітин жирової тканини у м'язових симпластах мають місце виражені мозаїчні зміни: вогнища пошкоджень з наявністю фіброзних структур з по-

рушенням архітекtonіки оточують деструктивні і дистрофічні симпласти або судинні "пучки", судини в яких утворюють клубочки або розташовуються окремо. Вищезазначені судини оточені фіброзними, колагеновими волокнами, просвіт судин в цих утвореннях звужений або закритий, тобто спостерігається початкове формування сполучнотканинних вогнищ рубця з невеликою кількістю м'язових волокон, що вказує на спотворення регенераторних процесів з переважанням деструкції над регенерацією. У пухкій сполучній тканині перимізію частіше виявляються фіброласти, частина яких дегенерує і руйнується. Оновлення популяції фіброblastів, клітин ендотелію і проміжних структур пухкої сполучної тканини спостерігається рідко. Перебудова пухкої сполучної тканини не виражена. Мезенхімоподібні клітини переважно розташовуються у периваскулярних ділянках. Така ж периваскулярна локалізація характерна для перицитів. Останні становлять особливу лінію розвитку периваскулярних клітин, розташовані в розщепленнях базальної мембрани ендотелію судин мікроциркуляторного русла. Такі ділянки пухкої сполучної тканини перимізія, мабуть, є "мезенхімальним резервом" материнського вмістилища.

Гістологічно в досліджуваних тканинах на цьому етапі спостережень також мають місце невеликі вогнища зі "збереженими" міосимпластами, в яких окремі м'язові волокна гіпертрофовані, тобто виявляються вогнища з наявністю компенсаторних реакцій, проте в перимізії формуються фіброзні вогнища. При імуногістохімічному дослідженні експресія віментину у вогнищах судинних пучків пери- і ендомізія нерівномірна. Імуногістохімічне визначення експресії фактора Віллебранда, що є маркером ангіогенезу в цій групі, дало негативний результат.

Через 3 місяці після трансплантації клітин у м'язовій тканині в більшості випадків має місце переважання ділянок міосимпластів у супроводі новоутворених судин перимізія, структура симпластів на значній відстані не порушена. Клітинна інфільтрація у місцях активної проліферації мезенхімоподібних клітин не виражена. Ріст судин йде відносно рівним фронтом у зонах, що мають волокнистий каркас з однотипних волокон, і сповільнюється при зустрічі з більшими пучками. У цих ділянках судинна і клітинна інфільтрація йде по прошарках пухкої

сполучної тканини між пучками колагенових волокон. Інфільтрат утворений поліморфноядерними лейкоцитами, макрофагами і фіброblastами.

Найбільш виражені скупчення клітин розташовуються в колі новоутворених капілярів. На окремих ділянках спостерігався яскраво виражений поліморфізм клітин. Зона проліферації характеризується безліччю недиференційованих і малодиференційованих клітин, кровоносних судин. Молода сполучна тканина має добре виражену судинну сітку, артеріоли і венули розташовані попарно, впорядковано, орієнтовані переважно паралельно колагеновим волокнам. У багатьох спостереженнях виявляються мікрвогнища, "насичені" ліпідними компонентами в перимізії тканини. Імуногістохімічно експресія віментину та колагену IV типу виявлена в більшості спостережень у вигляді окремих мікрвогниць у ділянках формування новоутворених судин, в окремих клітинних структурах пери- і ендомізія. Найбільше виражена в цей термін саме експресія фактора Віллебранда у вигляді виражених кровоносних капілярів та мікросудин у перимізії міосимпластів та мікрвогнища в ендомізії.

У всіх хворих одержані позитивні клінічні результати. При проведенні інструментальних досліджень мало місце збільшення сегментарного тиску на ішемізованій кінцівці в середньому на 15-20%. Дані лазерної флуометрії свідчать про покращення мікроциркуляції в дистальних відділах кінцівки вже через місяць після клітинної трансплантації.

**Висновки та перспективи наукового пошуку.** 1. Трансплантація мультипотентних стромальних клітин жирової тканини при хронічній ішемії кінцівок призводить до активації регенераторних процесів з утворенням молодих міонів та зменшення фібро-дистрофічних змін м'язової тканини. 2. Імуногістохімічні дослідження підтверджують активацію процесів ангіогенезу через 3 місяці після трансплантації, про що свідчить експресія фактора Віллебранда у вогнищах перимізія, експресія віментину та колагену IV типу в ділянках новоутворених судинних пучків. 3. Трансплантація мультипотентних стромальних клітин жирової тканини в ділянку ішемії у хворих з облітераційними захворюваннями артерій кінцівок може бути застосована як ефективний метод непрямой реваску-

ляризації кінцівки. 4. Зважаючи на позитивні результати лікування хворих з приводу хронічної ішемії кінцівок, доцільно вивчити вплив

трансплантатів культур клітин і тканинних еквівалентів на інші судинні захворювання та клітинні культури неаутологічного походження.

### Література

1. Андожская Ю.С. Современные методы оценки микроциркуляции в эфферентной терапии при лечении больных с атеросклерозом / Ю.С. Андожская, М.Б. Гурина, Е.Ю. Васина // Регионар. кровообращ. и микроциркуляция. – 2002. – № 21. – С. 52-59.
2. Dulak J. Angiogenic gene therapy with vascular endothelial growth factor – Hope or Hype? / J. Dulak, A. Jozkowicz // European Surg. – Acta Chirurgica Austriaca. – 2002. – Vol. 34, № 2. – P. 101-104.
3. Rissanen T. Gene therapy for therapeutic angiogenesis in critically ischaemic lower limb – on the way to the clinic / T. Rissanen, I. Yajanto, S. Yla-Herttuala // European J. of Clinical Investigation. – 2001. – № 31. – P. 651-658.
4. Clinical endpoints in peripheral endovascular revascularization trials: a case for standardized definitions / N. Diehm, P.M. Pattynama, M.R. Jaff, A. Cremonesi // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. – 2008. – Vol. 36, № 4. – P. 409-419.
5. The treatment of advanced chronic lower limb ischaemia with marrow stem cell autotransplantation / R. Nizankowski, T. Petriczek, A. Skotnicki, A. Szczekliki // Kardiolog. Pol. – 2005. – Vol. 63, № 4. – P. 351-360.

### КЛЕТОЧНАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

**Резюме.** Проведены гистологические и иммуногистохимические исследования мышечной ткани (определение экспрессии антител к фактору Виллебранда, коллагену IV типу и виментину) у больных с ишемией конечности после введения мультипотентных стромальных клеток собственной жировой ткани. Показано снижение ишемического повреждения миофибрилл, быструю активацию регенераторных сил мышцы. Иммуногистохимически выявлено стимуляцию процессов ангиогенеза через 3 месяца после трансплантации клеток.

**Ключевые слова:** хроническая ишемия, непрямая реваскуляризация, жировая ткань.

### CELL TRANSPLANTATION IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH VASCULAR PATHOLOGY

**Abstract.** Histological and immunohistochemical studies of the muscular tissue (an evaluation of the antibody expression to Willebrand's factor, collagen of type IV and vimentin) in patients with ischemia of the extremity upon introducing multipotent stromal cells of their own fatty tissue have been carried out. A decline of the ischemic damage of myofibrils, a rapid activation of the regenerative forces of the muscle have been demonstrated. A stimulation of the processes of angiogenesis was detected immunohistochemically in 3 months upon a transplantation of cells.

**Key words:** chronic ischemia, indirect revascularization, fatty tissue.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Надійшла 19.06.2012 р.

Рецензент – проф. І.Я.Дзюбановський (Тернопіль)