

DOI: 10.26693/jmbs06.01.037

УДК 616.14-002-009.85-089.843-003.93:576.35

Оліник Ю. В., Домбровський Д. Б., Давиденко І. С.

## МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ТРОФІЧНИХ ВИРАЗОК ВЕНОЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ ПІСЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ СТОVBУРОВИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ

Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна

olinyur@gmail.com

*Мета роботи* – проаналізувати ступінь активності регенеративних процесів у пацієнтів з трофічними венозними виразками нижніх кінцівок, що тривало не загоюються, на тлі клітинної трансплантації стовбурових клітин кордової крові та без неї.

У дослідженні взяли участь 32 пацієнта з трофічними венозними виразками венозної етіології, що тривало не загоюються.

*Результати.* У результаті проведеного дослідження встановлено, що процес загоєння у пацієнтів основної групи розпочинався з перших днів після трансплантації зі зменшення периульцелярного набряку та запальної гіперемії м'яких тканин навколо виразки. При дослідженні гістологічних особливостей центральних відділів виразки шкіри пацієнтів контрольної групи на п'яту добу після початку лікування встановлено, що поверхня дна виразок вкрита однорідними масами по типу фібриноїдного некрозу. Виразкові мають змінну глибину, місцями досягають клітковину, при цьому потові та сальні залози, волосяні фолікули по ходу дефектів повністю зруйновані, в цих місцях відзначаються крововиливи та молода грануляційна тканина. У пацієнтів основної групи поверхня дна виразок на всьому протязі вкрита однорідними масами по типу фібриноїдного некрозу, проте маси фібриноїдного некрозу виражені візуально у три рази менше, ніж в контрольній групі, але найголовніше – вони весь час чергуються з «прожилками», які складаються з клітин типу лімфоїдних. Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда у пацієнтів основної групи дозволила виявити нерівномірно розкидані невеликі компактні групи позитивно забарвлених клітин, які слід оцінити як осередки новоутворення кровоносних судин більш рівномірно розподілених серед кровоносних судин грануляційної тканини, на відміну від контрольної групи.

На 14-добу клінічного дослідження в дні виразки в основній групі спостерігаються морфологічні ознаки кращого дозрівання грануляційної тканини, що видно як за більш рівномірними і та інтенсивними процесами формування колагенових волокон (збільшення питомого об'єму колагенових волокон) та кровоносних судин (зменшення питомого об'єму кровоносних судин), так і по процесам дозрівання лімфоїдних (поліпотентних) клітин у фібробласти з більш повноцінною продукцією вімен-

тину в них та ендотеліоцитів з більш повноцінною продукцією фактору Віллебранда в них.

Також варто уваги й більш повне розсмоктування мас фібриноїдного некрозу в основній групі спостереження у порівнянні з контрольною групою пацієнтів, що також неодмінно має сприяти більш швидкому і повноцінному загоєнню виразки.

**Ключові слова:** кордова кров, стовбурові клітини, трансплантація, венозна трофічна виразка.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Стаття є частиною науково-дослідної роботи кафедри хірургії №1 Буковинського державного медичного університету на тему «Особливості діагностики, прогнозування розвитку ускладнень та лікування деяких хірургічних захворювань органів черевної порожнини у хворих з генетично детермінованими предикторами їх несприятливого перебігу», № державної реєстрації 0116U002936.

**Вступ.** Трофічні виразки нижніх кінцівок, що виникли внаслідок венозної гіпертензії, становлять близько 70 % усіх виразок нижніх кінцівок і наявні у кожного п'ятого хворого з хронічною венозною недостатністю. Незважаючи на досягнення медицини сьогодення, досі актуальним та до кінця не вирішеним питанням загальної та судинної хірургії залишається лікування трофічних виразок венозної етіології, адже на основі протоколів консервативної терапії тривалістю до чотирьох місяців, загоєння трофічних виразок венозної етіології вдається отримати лише у 50 % випадків. Після двох років інтенсивного лікування не загоюється 20 %, а після п'яти років – до 8 % виразкових дефектів залишаються відкритими [1]. Як наслідок, рівень інвалідизації доходить до 5%, а втрата працездатності коливається від 80 до 100 %.

Доведено, що в основі розвитку трофічних виразкових дефектів при хронічній венозній недостатності лежить венозна гіпертензія, яка ініціює цілий каскад патологічних реакцій на молекулярному, клітинному та тканинному рівнях.

Успіхи науковців, які використовують клітинні трансплантації при різних патологічних станах, надихають на пошук можливостей їх використання при тих нозологіях, де стандартна протокольна терапія є мало або неефективною [2, 3, 4]. На сьогодні сучасна медицина розглядає кордову кров як

найкраще джерело стовбурових клітин порівняно з кістковим мозком та периферичною кров'ю [1]. Завдяки можливості диференціюватися в різні типи клітин і тим самим відновлювати популяцію клітин пошкоджених або хворих органів, стовбурові клітини використовуються для лікування широкого кола різних захворювань, наприклад, печінки, головного мозку, серця, судин, кісток, хряща, крові, шкіри та інших [5, 6, 7]. Проте у літературі мало відомостей щодо ведення наукових пошуків можливості застосування клітинних трансплантацій для лікування саме трофічних виразок венозної етіології.

**Мета дослідження.** Дослідити процеси, що відбуваються на гістологічному та імуногістохімічному рівні після трансплантації стовбурових клітин кордової крові у пацієнтів з трофічними виразками венозної етіології.

**Матеріал та методи дослідження.** У дослідженні взяли участь 32 пацієнта з трофічними венозними виразками венозної етіології, що тривало не загоюються. Всі хворі отримували стаціонарне лікування в умовах відділення хірургії судин ОКУ «Чернівецька обласна клінічна лікарня» у період 2015-2019 роки.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р.

Причиною венозної недостатності даних пацієнтів була посттромбофлебійна хвороба нижніх кінцівок, С6 за СЕАР, яким в анамнезі, якщо були показані, виконано оперативні втручання по корекції венозного рефлюксу в поверхневій венозній системі, а також час існування виразкового дефекту на тлі лікування був більше двох років. Пацієнти розділені на дві групи: 12-ти пацієнтам I-ї групи (основна) до стандартної терапії додано трансплантацію стовбурових клітин пуповинної крові. 17 пацієнтів групи контролю отримували стандартне загальноприйняте лікування.

Мікроскопічні дослідження клінічного матеріалу (біоптатів) виразок шкіри (гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні) проведені в динаміці спостереження за пацієнтами обох груп на 5-у та 14-у доби після початку лікування. Дослідження виконані на основі описового методу забарвлення гістологічних зрізів (забарвлення гематоксиліном і еозином), гістохімічного методу на колагенові волокна та фібрин (забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н.З. Слінченко) та імуногістохімічного методу для виявлення віментину (з первинними антитілами до віментину) та факто-

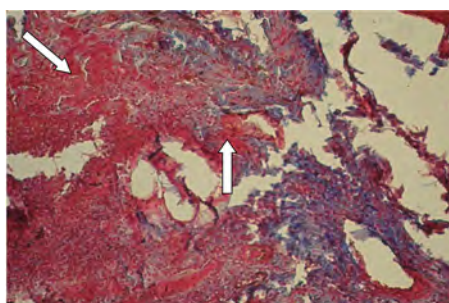
ру Віллебранда (з первинними антитілами до фактору Віллебранда) [8].

Матеріал для мікроскопічних досліджень стосується виключно центральних відділів виразки, оскільки пошкодження країв виразки могло би спричинити порушення процесу її крайової епітелізації. Краї виразки досліджувалися без мікроскопа – макроскопічно.

Цифрові копії зображення отримані за допомогою мікроскопа Delta Optical Evolution 100 (планахроматичні об'єктиви) та цифрової камери Olympus SP-550UZ. Цифрові зображення аналізували у спеціалізованій для гістологічних досліджень комп'ютерній програмі ImageJ (1.48v, вільна ліцензія, W. Rasband, National Institute of Health, USA, 2015).

Для трансплантації кріоконсервовану клітинну суспензію отримували з банку кордової крові ТОВ «Інститут клітинної терапії», яку вводили пункційно під трофічну виразку. Для знеболювання використовувалась епідуральна анестезія. Клітинний трансплантат мав наступні параметри: вміст ядровмісних клітин –  $0,11 \times 10^9$  до  $3,7 \times 10^9$ , кількість мононуклеарів – 15-60%, КУО-ГМ –  $(50 \pm 10) \times 10^3$ /мл, вміст гемопоетичних клітин, що несуть на своїй поверхні маркери CD34+ CD45+ та CD117+ CD45+, дорівнював відповідно  $(0,85 \pm 0,20)$  та  $(1,52 \pm 0,39)\%$ . Життєздатність клітин –  $(80 \pm 10)\%$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** При дослідженні гістологічних особливостей центральних відділів виразки шкіри пацієнтів контрольної групи на п'яту добу після початку лікування встановлено, що поверхня дна виразок вкрита однорідними масами по типу фібриноїдного некрозу (рис. 1).

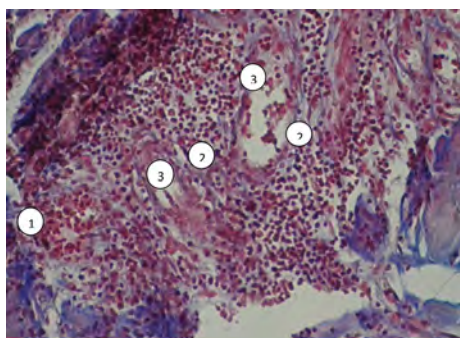


**Рис. 1.** П'ята доба клінічного дослідження. Центральні відділи виразки. У верхній частині світлин червоне забарвлення відповідає місцю фібриноїдного некрозу (вказано стрілками). Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н.З. Слінченко. Об. 20 $\times$ . Ок.10 $\times$

Товщина поверхневого фібриноїдного некрозу коливається від пацієнта до пацієнта, але всі основні морфологічні риси некротичних мас зберігаються у всіх пацієнтів в рівній мірі – місця, які дають позитивне червоне забарвлення на фібрин рівномірно перемішані з уламками клітин, на що вказує

«ядерний пил» – результат розпаду клітинних ядер на фрагменти в результаті каріопікнозу. Колагенові волокна в осередках фібриноїдного некрозу або не спостерігаються, або їх іноді видно у вигляді невеликих фрагментів неправильної форми.

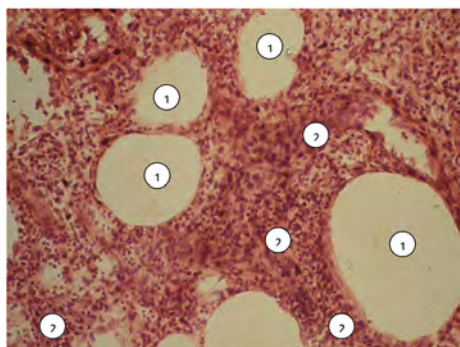
Виразкові дефекти в різних пацієнтів контрольної групи мають змінну глибину, місцями досягають клітковину, при цьому потові та сальні залози, волосяні фолікули по ходу дефектів повністю зруйновані, в цих місцях відзначаються крововиливи та молода грануляційна тканина, в якій у великій кількості розміщуються клітини круглястої форми (типу лімфоїдних), окремі поліморфноклітинні лейкоцити та спостерігаються тонкостінні кровоносні судини, які розподілені нерівномірно (рис. 2).



**Рис. 2.** П'ята доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки

*Примітки:* 1. Крововилив; 2. Лімфоїдні клітини (місця найбільшої концентрації); 3. Кровоносні судини. Забарвлення хроматропом-водним блакитним за методом Н.З. Слісченко. Об. 20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>

Такі ж лімфоїдні клітини, які були відмічені в грануляційній тканині у невеликій кількості розміщуються в клітковині за межами грануляційної тканини, іноді їх концентрація є підвищеною і тому присутність цих клітин стає доволі помітною (рис. 3).

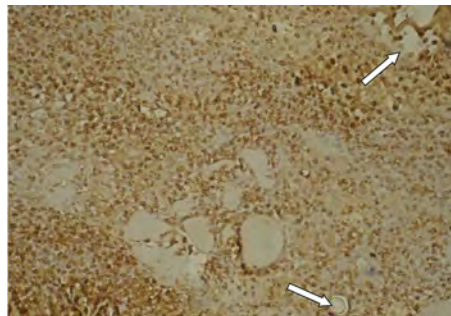


**Рис. 3.** П'ята доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки в місці досягання клітковини

*Примітки:* 1. Ліпоцити клітковини; 2. Лімфоїдні клітини (місця найбільшої концентрації); Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>

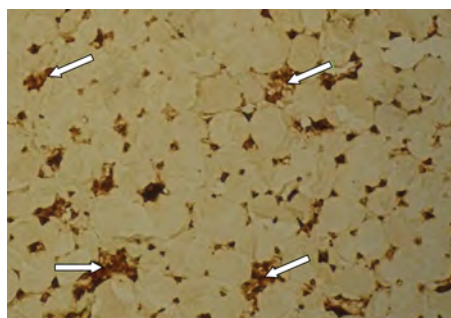
При постановці імуногістохімічної методики на віментин на серійних зрізах у пацієнтів з контроль-

ної групи, видно, що лімфоїдні клітини грануляційної тканини мають слабе забарвлення (рис. 4) інтенсивністю переважно в один бал за чотирибальною шкалою (від 0 до 3 балів), що може свідчити про приналежність цих клітин до класу поліпотентних (стовбурових).



**Рис. 4.** П'ята доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. В полі зору переважно круглясті клітин типу лімфоїдних із слабким забарвленням на віментин. Також видно просвіти кровоносних судин (вказані стрілками). Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>

Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда у пацієнтів контрольної групи в грануляційній тканині дозволила виявити нерівномірно розкидані невеликі компактні групи позитивно забарвлених клітин (рис. 5), які слід оцінити як осередки новоутворення кровоносних судин, оскільки позитивне забарвлення на фактор Віллебранда у таких накопиченнях клітин можуть давати тільки ендотеліоцити, причому, в грануляційній тканині, як відомо, утворюються лише кровоносні судини, а не лімфатичні.



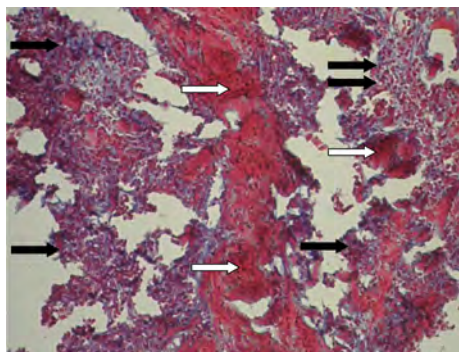
**Рис. 5.** П'ята доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. В полі зору окремі осередки позитивно забарвлених клітин (місце з найбільшою концентрацією груп позитивних клітин). Забарвлення інтенсивне. Найбільш великі осередки вказані стрілками. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>

При дослідженні гістологічних особливостей центральних відділів виразки шкіри пацієнтів основної групи на п'яту добу після початку лікування встановлені відмінності від контрольної групи.

Зокрема, хоч поверхня дна виразок на всьому протязі вкрита однорідними масами по типу

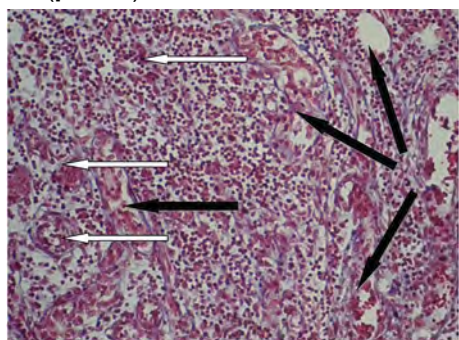


фібриноїдного некрозу і його товщина також коливається від пацієнта до пацієнта, тим не менш видно, що в цілому маси фібриноїдного некрозу виражені візуально у три рази менше, ніж в контрольній групі, але найголовніше – вони весь час чергуються з «прожилками», які складаються з клітин типу лімфоїдних (рис. 6).



**Рис. 6.** П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Червоне забарвлення відповідає місцю фібриноїдного некрозу (вказано білими стрілками). «Прожилки» з лімфоїдними клітинами вказані чорними стрілками. Забарвлення хроматропом-водним блакитним за методом Н.З. Слінченко. Об. 20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>

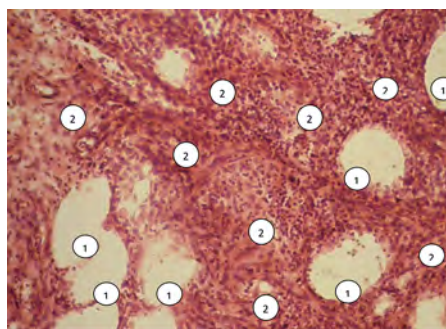
Окрім того, у пацієнтів основної групи на п'яту добу після початку лікування під покривом фібриноїдного некрозу в грануляційній тканині крововиливи траплялись дуже зрідка в порівнянні з контрольною групою дослідження, а сама грануляційна тканина була більш рівномірно вповнена лімфоїдними клітинами та тонкостінними кровоносними судинами (рис. 7).



**Рис. 7.** П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Забарвлення хроматропом-водним блакитним за методом Н.З. Слінченко. Об. 20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>

*Примітки:* Білі стрілки: лімфоїдні клітини (місця найбільшої концентрації). Чорні стрілки: кровоносні судини

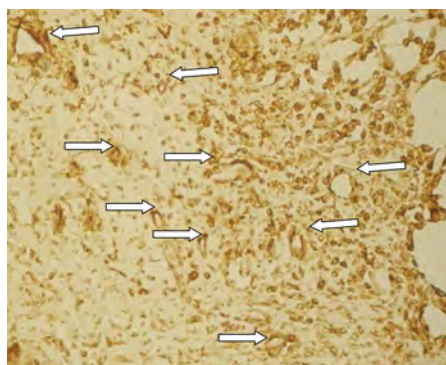
Ще однією відмінністю основної групи від контрольної було те, що лімфоїдні клітини в клітковині біля виразок за межами грануляційної тканини розташовувалися рівномірно, а не окремими осередками більшої концентрації, отже, можна констатувати, що їх у цілому було значно більше (рис. 8).



**Рис. 8.** П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки в місці досягання клітковини

*Примітки:* 1. Ліпоцити клітковини. 2. Лімфоїдні клітини (місця найбільшої концентрації). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>

Застосування імуногістохімічної методики на віментин у пацієнтів основної групи дослідження показало в цілому ті ж результати, що і в контрольній групі – лімфоїдні клітини давали слабе забарвлення на віментин, однак, варто зауважити, що ці клітини розташовувалися по грануляційній тканині більш рівномірно серед більшої кількості кровоносних судин (рис. 9).

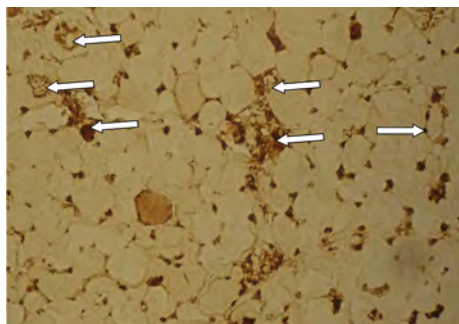


**Рис. 9.** П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. В полі зору переважно круглясті клітин типу лімфоїдних із слабким забарвленням на віментин. Також видно просвіти кровоносних судин (вказані стрілками). Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>

Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда у пацієнтів основної групи так само, як і у пацієнтів контрольної групи, у грануляційній тканині дозволила виявити нерівномірно розкидані невеликі компактні групи позитивно забарвлених клітин, які слід оцінити як осередки новоутворення кровоносних судин. Відмінністю від контрольної групи було те, що ці острівки були більш рівномірно розподілені серед кровоносних судин грануляційної тканини (рис. 10).

Отже, можна зробити проміжний висновок про те, що в пацієнтів в основній групі у порівнянні з контрольною групою спостерігається низка позитивних змін вже на 5-ту добу спостереження – відмічається більш рівномірний характер розвитку

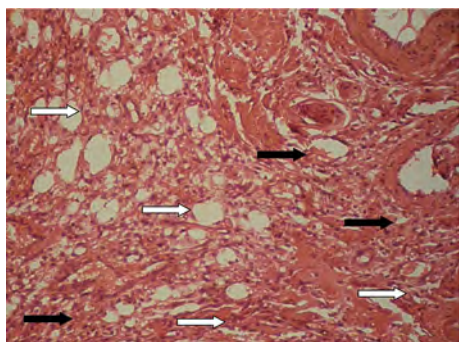
грануляційної тканини в плані більш рівномірного розподілу лімфоїдних клітин та кровоносних судин, більша присутність лімфоїдних клітин, менший рівень розвитку фібриноїдного некрозу з переривчастим його характером, що може сприяти більш швидкому загоєнню виразкового дефекту в сенсі швидкості звільнення від некротичних мас, рівномірності формування рубця, що разом повинно сприяти епітелізації виразкового дефекту.



**Рис. 10.** П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. В полі зору окремі осередки позитивно забарвлених клітин (місце з найбільшою концентрацією груп позитивних клітин). Забарвлення інтенсивне. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>

Усі вищеназвані методи мікроскопічного дослідження були застосовані і на 14-ту добу клінічного дослідження як в контрольній, так і в основній групі.

Отже, на 14-ту добу клінічного дослідження в пацієнтів контрольної групи дослідження відмічалася майже повна відсутність фібриноїдного некрозу (відмічалася лише невеличкі осередки некрозу неправильної форми), а грануляційна тканина містила лімфоїдні клітини та фіброblastи приблизно у рівному співвідношенні та кровоносні судини, які розташовувалися нерівномірно (рис. 11).

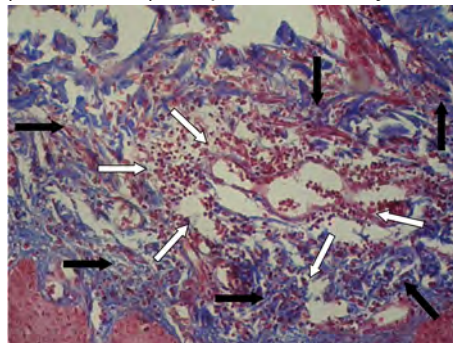


**Рис. 11.** 14-та доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>

*Примітки:* Білими стрілками показані місця розташування фіброblastів та лімфоїдних клітин, чорними – кровоносні судини

Методика фарбування колагенових волокон хромотропом-водним-блакитним за методом

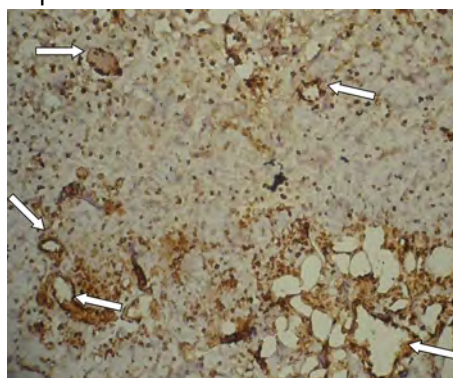
Н. З. Слінченка показала, що формування колагенових волокон було нерівномірним – відмічалася осередки слабого утворення колагенових волокон, які чергувалися з ділянками великої концентрації колагенових волокон з сильним забарвленням колагену (рис. 12). В осередках слабого формування колагенових волокон можна було спостерігати більшу відносну кількість лімфоїдних клітин (понад 50%) та кровоносних судин.



**Рис. 12.** 14-та доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченка. Об. 20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>

*Примітки:* Білими стрілками показано місце слабого утворення колагенових волокон з великою кількістю лімфоїдних клітин фіброblastів, кровоносних судин, чорними стрілками показане місце значного утворення колагенових волокон

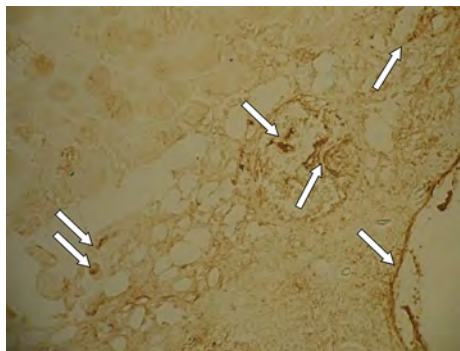
При імуногістохімічному дослідженні на віментин виявлено, що лімфоїдні клітини були як зі слабким забарвленням, так і з забарвленням середньої або навіть високої інтенсивності, а веретеноподібні клітини типу фіброblastів переважно мали інтенсивне позитивне забарвлення на віментин (рис. 13). Ендотелій кровоносних судин також інтенсивно забарвлювався на віментин. Відмітним є те, що розподіл вказаних типів клітин був помітно нерівномірним.



**Рис. 13.** 14-та доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. В полі зору круглясті клітини типу лімфоїдних із слабким забарвленням різної інтенсивності на віментин та веретеноподібні об'єкти типу фіброblastів з сильним забарвленням на віментин. Також видно просвіти кровоносних судин (вказані стрілками). Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>

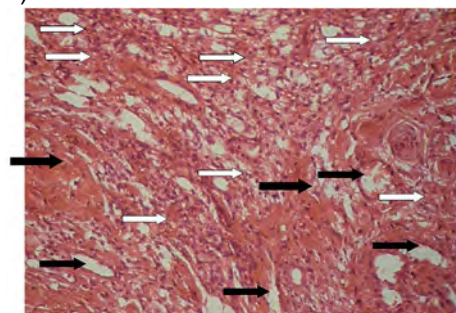


При імуногістохімічному дослідженні на фактор Віллебранда на 14-ту добу у пацієнтів контрольної групи позитивне забарвлення було виявлено лише в ендотеліоцитах кровоносних судин, при цьому його інтенсивність була доволі нерівномірною (рис. 14). Як правило, більш інтенсивне позитивне забарвлення на фактор Віллебранда відмічалася у судинах більш великого калібру, хоча таке закономірність спостерігалася не у всіх кровоносних судинах, іноді були судини більшого калібру з менш інтенсивним забарвленням в ендотеліоцитах, або дрібні судини з більш інтенсивним забарвленням в ендотеліоцитах.



**Рис. 14.** 14-та доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. Кровоносні судини вказані стрілками. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>

У пацієнтів основної групи, на відміну від пацієнтів контрольної групи, на 14-ту добу клінічного дослідження відмічалася повна відсутність фібриноїдного некрозу, грануляційна тканина містила лімфоїдні клітини та фіброblastи, причому останні завжди переважали у відносних значеннях над лімфоїдними клітинами. Кровоносні судини розподілялися більш рівномірно по грануляційній тканині в порівнянні з пацієнтами контрольної групи (рис. 15).



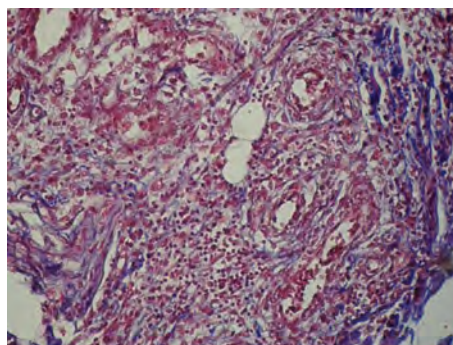
**Рис. 15.** 14-та доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Забарвлення гематоксиліном і еозинном. Об. 20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>

*Примітки:* Білими стрілками показані місця розташування фіброblastів та лімфоїдних клітин, чорними – кровоносні судини

При цьому, питома вага кровоносних судин в основній групі була нижчою (11±0,8%), ніж в контрольній групі (16±0,7%), що вказує на більшу зрі-

лість грануляційної тканини пацієнтів контрольної групи по параметру масиву кровоносних судин.

Методика фарбування колагенових волокон хромотропом-водним-блакитним за методом Н. З. Слінченка показала, що у пацієнтів основної групи формування колагенових волокон було більш рівномірним у порівнянні з пацієнтами контрольної групи, хоча були й місця різко підсиленої колагенізації (рис. 16), при цьому в середньому відмічалася дещо більша питома вага колагенових волокон, зокрема, в основній групі цей параметр у середньому становив 34±2,8%, а в контрольній –15±1,9%, що вказує на більшу зрілість грануляційної тканини в пацієнтів основної групи.



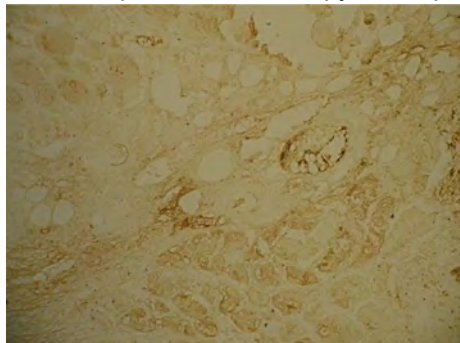
**Рис. 16.** 14-та доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченка. Об. 20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>

При імуногістохімічному дослідженні на віментин встановлено, що в основній групі, як і в контрольній, лімфоїдні клітини були як зі слабким забарвленням, так і з забарвленням середньої або навіть високої інтенсивності, а веретеноподібні клітини типу фіброblastів переважно мали інтенсивне позитивне забарвлення на віментин. (рис. 17). Ендотелій кровоносних судин також інтенсивно забарвлювався на віментин. Важливим є те, що розподіл вказаних типів клітин був більш рівномірним, ніж у контрольній групі.



**Рис. 17.** 14-та доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. В полі зору круглясті клітин типу лімфоїдних із слабким забарвленням різної інтенсивності на віментин та веретеноподібні об'єкти типу фіброblastів з сильним забарвленням на віментин. Також видно просвіти кровоносних судин. Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20<sup>×</sup>. Ок.10<sup>×</sup>

При імуногістохімічному дослідженні на фактор Віллебранда на 14-ту добу в пацієнтів основної групи позитивне забарвлення, як і у пацієнтів контрольної групи, виявлено лише в ендотеліоцитах кровоносних судин, при цьому його інтенсивність була рівномірною (рис. 18) і в середньому значно більш вираженою, ніж в групі контролю.



**Рис. 18.** 14-та доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20 $\times$ . Ок.10 $\times$

Це можна розцінити, як більш рівномірне і більш повноцінне дозрівання грануляційної тканини за параметром зрілості ендотелію кровоносних судин.

У багатьох тканинах стовбурові клітини слугують своєрідною внутрішньою системою відновлення, що ділиться суттєво без обмежень на поповнення інших клітин [4]. При поділі стовбурових клітин кожна нова має потенціал залишитися стовбуровою клітиною або стати іншим типом клітини з більш спеціалізованою функцією, тобто диференціюватися [9]. Універсальний механізм впливу стовбурових клітин кордової крові на репарацію

в експерименті дозволив з'ясувати морфологічні особливості загоєння та використати методику трансплантації при трофічних виразках венозної етіології, що тривало не загоюються [10,11]. Результати морфологічного дослідження дозволяють об'єктивізувати уявлення про перебіг ранового процесу у даній категорії пацієнтів і підтверджують, що процеси загоєння після трансплантації значно прискорюються та відбуваються за рахунок формування колагенових волокон, відновлення ендотеліоцитів та дозрівання сполучної тканини.

**Висновки.** Трансплантація стовбурових клітин кордової крові сприяє кращому і швидшому дозріванню грануляційної тканини, що видно як за більш рівномірними та інтенсивними процесами формування колагенових волокон (збільшення питомого об'єму колагенових волокон) та кровоносних судин (зменшення питомого об'єму кровоносних судин), так і за процесами дозрівання лімфоїдних (поліпотентних) клітин у фібробласти з більш повноцінною продукцією віментину в них та ендотеліоцитів з більш повноцінною продукцією фактору Віллебранда, а повне розсмоктування фібриноїдного некрозу в основній групі спостережене у порівнянні з контрольною групою пацієнтів говорить про більш швидке і повноцінне загоєння виразки.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні віддалених наслідків трансплантації клітин кордової крові пацієнтам з венозними трофічними виразками, що тривало не загоюються, на підставі планіметричних досліджень та визначення якості життя пацієнтів.

## References

1. Pytyuk OV, Telemukha SB, Pytyuk VO. Shlyakhy pokrashchannya likuvannya khvorykh iz khronichnymy trofichnymy vyrazkami nyzhnikh kintsivok riznoho genezu [Ways to improve the treatment of patients with chronic trophic ulcers of the lower extremities of different genesis]. *Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Seriya Medytsyna*. 2012; 2(44): 86-91. [Ukrainian]
2. Polyachenko YuV, Nikonenko OS, Salyutin RV, Komarov YuV, Palyanytsya SS, Borys RM. Klitynna transplantatsiya: normatyvno-pravovi aspekty, perspektyvy ta napryamky klinichnoho vykorystannya [Cell transplantation: regulatory aspects, prospects and directions of clinical use]. *Klitynna ta orhanna transplantol*. 2013; 1(2): 28-34. [Ukrainian]. doi: 10.22494/COT.V111.50
3. Rusyn VI, Korsak VV, Dikker HM, Mytrovka BA. Likuvannya venoznykh trofichnykh vyrazok [Treatment of venous trophic ulcers]. *Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Seriya Medytsyna*. 2011; 2(40): 222-225. [Ukrainian]
4. Shulha MV, Tsarivska YaM. Biotekhnolohichni aspekty vykorystannya mezenkhimalnykh, embrionalnykh, stromalnykh ta indukovanykh plyurypotentnykh stoburovykh klityn [Biotechnological aspects of using mesenchymal, embryonic, stromal and induced pluripotent stem cells]. *Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences*. 2018; VI(17/157): 34-37. [Ukrainian] doi: 10.31174/SEND-NT2018-157VI17-08
5. Obzor dokladov, predstavlenykh na Vsemirnom konhresse po pupovinnoy krovi i innovatsionnym podkhodam k lecheniyu serpovidnokletochnoy anemii v Monako 24-27 oktyabrya 2013 hoda [Review of papers presented at the World Congress on Cord Blood and Innovative Approaches to the Treatment of Sickle Cell Disease in Monaco, October 24-27, 2013]. *Kletochnaya i orhannaya transplantol*. 2014; 2(1): 90-94. [Russian]
6. Harrell CR, Jovicic N, Djonov V, Volarevic V. Therapeutic Use of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes: From Basic Science to Clinics. *Pharmaceutics*. 2020; 12(5): 474. doi: 10.3390/pharmaceutics12050474

7. Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, Phinney DG, Hare JM, Caplan AI. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *NPJ Regenerative medicine*. 2019; 4(1): 1-15. doi: 10.1038/s41536-019-0083-6
8. Ferreira T, Rasband W. *Image J User Guide*. NY: National Institute of Health; 2012. 187 p.
9. Pasteur I, Tron'ko M. Klinichni doslidzhennya z vykorystannya stovburovykh klityn u likuvanni patsiyentiv iz syndromom diabetychnoi stopy zhidno z bazoyu danykh saytu ClinicalTrials.gov [Clinical trials on the use of stem cells in the treatment of patients with diabetic foot syndrome according to the database of the site ClinicalTrials.gov]. *Endokrinologiya*. 2020; 25(3): 251-266. doi: 10.31793/1680-1466.2020.25-3.251
10. Dombrovskiy DB, Olynyk YuV, Davydenko IS. Morfolohichni osoblyvosti reheneratsiyi trofichnoi vyrayzky venoznoho henezu pry zastosuvanni stovburovykh klityn kordovoi krovi v eksperymenty [Morphological features of regeneration of trophic ulcer of venous genesis with the use of cord blood stem cells in the experiment]. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu*. 2018; 22(3): 412-416. [Ukrainian]. doi: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(3)-03
11. Pikus PO, Rymar SYu, Shuvalova NS, Buchek PV. Morfolohichni osoblyvosti vidnovlennya pechinky shchuriv na modeli tsyrozu, indukovanoho CCL4, pislya transplantatsiyi mezenkhimalnykh stovburovykh klityn pupovyny lyudy [Morphological features of rat liver regeneration in a model of CCL4-induced cirrhosis after human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation]. *Fakty eksperimentalnoi evolyutsiyi orhanizmiv*. 2020; 26: 252-258. [Ukrainian] doi: 10.7124/FEEO.v26.1275

УДК 616.14-002-009.85-089.843-003.93:576.35

### **МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ ВЕНОЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОРДОВОЙ КРОВИ**

**Олиник Ю. В., Домбровский Д. Б., Давыденко И. С.**

**Резюме.** Цель исследования – проанализировать степень активности регенеративных процессов у пациентов с длительно незаживающими трофическими венозными язвами нижних конечностей, на фоне клеточной трансплантации стволовых клеток кордовой крови и без нее.

В исследовании приняли участие 32 пациента с длительно незаживающими трофическими венозными язвами венозной этиологии.

**Результаты.** В результате проведенного исследования установлено, что процесс заживления у пациентов основной группы начинался с первых суток после трансплантации уменьшением периферического отека и воспалительной гиперемии мягких тканей вокруг язвы. При исследовании гистологических особенностей центральных отделов язвы пациентов контрольной группы на пятые сутки после начала лечения установлено, что поверхность дна язв покрыта однородными массами по типу фибриноидного некроза. Язвы имеют переменную глубину, местами достигают клетчатку, при этом потовые и сальные железы, волосяные фолликулы по ходу дефектов полностью разрушены, в этих местах отмечаются кровоизлияния и молодая грануляционная ткань. У пациентов основной группы поверхность дна язв на всем протяжении покрыта однородными массами по типу фибриноидного некроза, однако массы фибриноидного некроза выражены визуально в три раза меньше, чем в контрольной группе, но они все время чередуются с «прожилками», которые состоят из клеток типа лимфоидных. Иммуногистохимическая методика на фактор Виллебранда у пациентов основной группы позволила выявить неравномерно разбросанные небольшие компактные группы положительно окрашенных клеток, которые следует оценить как ячейки новообразования кровеносных сосудов, более равномерно распределенных среди кровеносных сосудов грануляционной ткани, в отличие от контрольной группы.

На 14-сутки клинического исследования в дне язвы в основной группе наблюдались морфологические признаки лучшего созревания грануляционной ткани, что видно как по более равномерным и интенсивным процессам формирования коллагеновых волокон (увеличение удельного объема коллагеновых волокон) и кровеносных сосудов (уменьшение удельного объема кровеносных сосудов), так и по процессам созревания лимфоидных (полипотентных) клеток в фибробласты с более полноценной продукцией виментина в них, и эндотелиоцитов с более полноценной продукцией фактора Виллебранда в них. Отмечается более полное рассасывание масс фибриноидного некроза в основной группе наблюдения по сравнению с контрольной группой пациентов, что способствует более быстрому и полноценному заживлению язвы.

**Ключевые слова:** кордовая кровь, стволовые клетки, трансплантация, венозная трофическая язва.



UDC 616.14-002-009.85-089.843-003.93:576.35

### **Morphological Peculiarities of Trophic Ulcers of Venous Etiology after Cord Blood Stem Cell Transplantation**

**Olinik Y. V., Dombrovskiy D. B., Davydenko I. S.**

**Abstract.** *The aim.* The research deals with analysis of the degree of regenerative processes activity in patients with trophic venous ulcers of the lower extremities that do not heal for a long time on the background of cell transplantation of cord blood stem cells and without.

The study involved 32 patients with long-term non-healing trophic venous ulcers of venous etiology.

*Results and discussion.* The study results showed that the healing process of the main group patients began in the first days after transplantation to reduce pericellular edema and inflammatory hyperemia of the soft tissues around the ulcer. When examining the histological features of the central skin ulcers of patients in the control group on the fifth day after treatment, we found out that the bottom surface of the ulcers was covered with homogeneous masses of the type of fibrinoid necrosis. Ulcers had a variable depth, in some places reached the fiber, with sweat and sebaceous glands, hair follicles in the course of defects were completely destroyed, in these places there were hemorrhages and young granulation tissue.

In patients of the main group, the surface of the bottom of the ulcer was covered with homogeneous masses of fibrinoid necrosis, but the masses of fibrinoid necrosis were visually expressed three times less than in the control group, but the most important was that they always alternated with “veins” consisting of cells type of lymphoid. Immunohistochemical analysis for Willebrand factor in patients of the main group revealed unevenly scattered small compact groups of positively stained cells, which should be evaluated as foci of neoplasms of blood vessels more evenly distributed among the blood vessels of granulation tissue, in contrast to the control group.

On the 14<sup>th</sup> day of the clinical study at the bottom of the ulcer in the main group there were morphological signs of better maturation of granulation tissue, as seen by more uniform and intensive processes of collagen fiber formation (increase in specific volume of collagen fibers) and blood vessels (decrease in specific volume of blood vessels) and the maturation of lymphoid (polypotent) cells into fibroblasts with more complete production of vimentin in them and endothelial cells with more complete production of Willebrand factor in them. It should be noted that there was a more complete resorption of fibrinoid necrosis masses in the main observation group compared to the control group of patients, which should also contribute to faster and more complete healing of the ulcer.

**Keywords:** cord blood, stem cells, transplantation, venous trophic ulcer.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 04.12.2020 р.

*Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування*