

Вплив мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин на неоангіогенез нижніх кінцівок шурів з експериментальною хронічною ішемією

А.Г. ПОПАНДОПУЛО, А.В. ОБЕРЕМКО, П.Л. ВАРШАВЕР, І.Г. ПОСТОЛЮК

ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака НАМН України», м. Донецьк

Effect of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells on Neoangiogenesis of Rat Lower Limbs with Experimental Chronic Ischemia

A.G. POPANDOPULO, A.V. OBEREMKO, P.L. VARSHAVER, I.G. POSTOLYUK

V.K. Gusak Institute of Urgent and Recovery Surgery
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Donetsk, Ukraine

Метою дослідження було вивчити вплив мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин (МСК) червоного кісткового мозку шурів на кровоток в ішемізованих кінцівках.

Всі щури лінії Wistar-Kioto були поділені на 5 груп по 15 тварин: 1 (контрольна) – формування хронічної ішемії без подальшого лікування; 2 – внутрішньом'язове введення фізіологічного розчину; 3 – внутрішньом'язове введення аутокрові як агента формування місцевого асептичного запалення, та як можливого джерела неоангіогенезу в уражених кінцівках; 4 – внутрішньом'язове введення мезенхімальних стовбурових клітин як джерела ангіогенезу; 5 – інтраваскулярне введення мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин. Виділені МСК при маркуванні антитілами («BD Biosciences Pharmingen», США) мали фенотип: $CD105^+CD73^+CD90^+$ (> 95 % позитивних) і $CD45^-CD34^-CD79a^-HLA-DR^-$ (< 2% позитивних) та були здатні диференціюватись в остео-, адипо- та хондрогенному напрямку при спрямованій індукції *in vitro*. Для виготовлення трансплантата використовували клітини 2–3-го пасажів та 0,9% розчин хлориду натрію.

Після моделювання ішемії нижньої кінцівки за дві доби після проведення перев'язування стегнової артерії при гістологічному дослідженні м'язової тканини внутрішньої поверхні стегна у всіх спостереженнях мали місце ознаки вираженої ішемії на фоні порушення кровообігу в судинах мікроциркуляції. На 14 і 21-ю добу експерименту в м'язових біоптатах тварин з введенням МСК фіброзні зміни були виражені достовірно менше. Крім того, при імуногістохімічному фарбуванні з CD34 кількість дрібних міжм'язових капілярів була достовірно вищою, ніж в інших групах тварин.

Результати проведеного дослідження свідчили про покращення кровотока в ішемізованих кінцівках тварин як після інтраваскулярного, так і внутрішньом'язового введення суспензії МСК порівняно з тими тваринами, яким не проводилась трансплантація клітин в ішемізовані тканини, та тими тваринами, яким внутрішньом'язово вводили фізіологічний розчин. Застосування МСК кісткового мозку порівняно з внутрішньом'язовим введенням аутокрові в експерименті на фоні ішемії дозволило швидше відновити кровоток в ішемізованих кінцівках.

The research aim was to study the effect of multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) of rat red bone marrow on blood circulation in ischemic limbs.

All Wistar-Kioto rats were divided into 5 groups by 15 animals: the 1st (control) – developing chronic ischemia without further treatment; the 2nd – intramuscular injection of physiological solution; the 3rd – intramuscular injection of autoblood as agent forming local aseptic inflammation and as a possible source of neoangiogenesis in injured limbs, the 4th – intramuscular injection of mesenchymal stem cells as a source of angiogenesis; the 5th – intravascular introduction of multipotent mesenchymal stromal cells. Antibody labeling (BD Biosciences Pharmingen, USA) revealed that the derived MSCs had a phenotype: $CD105^+CD73^+CD90^+$ (> 95% positive) and $CD45^-CD34^-CD79a^-HLA-DR^-$ (< 2% positive) and were able to differentiate towards osteo-, adipo- and chondrogenic at directed induction *in vitro*. There were used the cells of the 2nd–3rd passages and 0.9% sodium chloride solution to produce transplant.

After simulation of lower limb ischemia in two days after femoral artery ligation at histological examination of inner thigh muscle tissue had signs of severe ischemia on the background of poor circulation in microcirculation vessels. To the 14th and 21st days of the experiment in animal muscle biopsies with introduction of MSCs the fibrotic changes were less expressed. Moreover during immunohistochemical staining with CD34 antigene a number of small intramuscular capillaries was significantly higher than in other animal groups.

The results of the study testified to improved blood circulation in animal ischemic limbs both after intravascular and intramuscular administration of MSCs suspension if compared with those animals, which were not transplanted with the cells into ischemic tissue, and those ones injected intramuscularly with physiological solution. Application of bone marrow MSCs compared with intramuscular autoblood administration in the experiment with ischemia allowed rapid restoration of blood circulation in ischemic limbs.