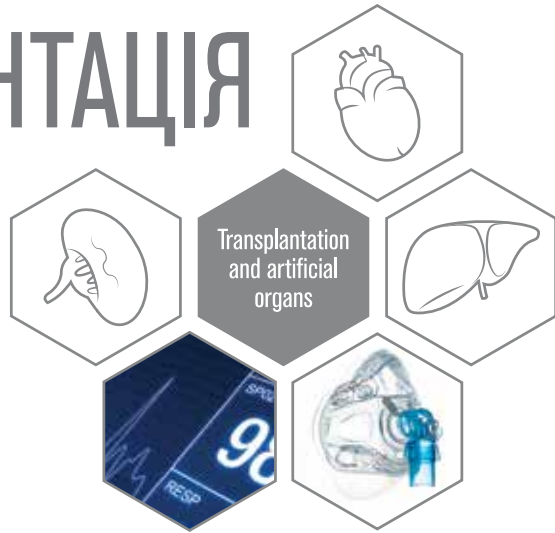


ГРОМАДСЬКА ОРГАНІЗАЦІЯ «АСОЦІАЦІЯ СЕРЦЕВО-СУДИННИХ ХІРУРГІВ УКРАЇНИ», М. КИЇВ



НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ ХІРУРГІЇ ІМЕНІ М.М. АМОСОВА

ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ТА ШТУЧНІ ОРГАНИ



Том 4, № 2, 2025

Трансплантація та штучні органи

Виходить 4 рази на рік

Заснований у лютому 2018 року

Київ

Transplantation and artificial organs

Published 4 times a year

Founded in February 2018

Kyiv

Вплив клітинної терапії на морфологічні і морфометричні характеристики серця при експериментальному інфаркті міокарда Грамотюк С. М., Іванова Ю. В., Естрін С. І., М'ясоєдов К. В., Криворучко І. А., Кравченко Т. В.	6
Критерії відбору хворих на тривалу механічну підтримку кровообігу як «міст» до трансплантації серця Танська О. О.	28
Повторна трансплантація серця у пацієнта з ранньою дисфункцією трансплантата. Представлення першого успішного випадку в Україні Самчук О. О., Домашич Р. В., Матолінець Н. В., Овечко М. Є., Міський І. П., Якимович Ю. С.	45
З Нешвілла до Черкас: Адаптування методики консервації донорського серця при температурі 10 °С під умови трансплантації серця в Україні Журба О., Буряк Р., Печененко А.	53
Ендоваскулярне лікування тромбозу лівої зовнішньої клубової артерії після алотрансплантації трупної донорської нирки в ранньому посттрансплантаційному періоді. Клінічний випадок Гайдаржі Є. І., Руденко Д. Ю.	61

УДК: 616.127-005.08-0016-085:611-018.1-02

Грамятук С. М.¹, Ph.D., президент Асоціації біобанків України,

<https://orcid.org/0000-0003-4238-7031>

Іванова Ю. В.², Ph.D., доктор медичних наук, професор кафедри хірургії №1,

<https://orcid.org/0000-0003-4464-3035>

Естрін С. І.³, Ph.D., доктор медичних наук, професор, відділення кардіохірургії,

<https://orcid.org/0000-0003-3957-5971>

М'ясоєдов К. В.², Ph.D., доцент кафедри хірургії №1,

<https://orcid.org/0000-0002-3878-7713>

Криворучко І. А.², Ph.D., доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри хірургії №1

Кравченко Т. В.³, Ph.D., завідувачка відділення аритмології та електрофізіології,

<https://orcid.org/0000-0002-1152-7946>

1 - Institute of Bio-Stem Cell Rehabilitation, Ukraine Association of Biobank

2 - Харківський національний медичний університет

3 - ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В. Т. Зайцева НАМН України»

Вплив клітинної терапії на морфологічні і морфометричні характеристики серця при експериментальному інфаркті міокарда

Реферат. Ішемічна хвороба серця займає перше місце серед серцево-судинних захворювань за частотою ускладнень і кількості летальних наслідків. Сучасні дослідження в області біології стовбурової клітини кардинально змінили усі уявлення про регенеративні здатності міокарда та стали початком нового терапевтичного напрямку – клітинної кардіоміопластики, який спрямований на заміщення пошкоджених кардіоміоцитів.

Матеріали і методи. Експеримент виконувався на 142 крисях лінії Вістар-Кайота, вагою 200–220 г, яким моделювали гострий інфаркт міокарда шляхом прошивання і перев'язки передньої міжшлуночкової артерії. Тварин було розподілено на п'ять груп залежно від наявності чи відсутності лікування і шляху введення стовбурових клітин. Окрему групу становили 20 самок, яких ми використовували в якості донорів мезенхімальних стовбурових клітин задля подальшого дослідження по Y-хромосомі хоумінгу клітин в організмі. Стівбурові клітки отримували з периферичної крові методом магнітної сепарації. Матеріалом для морфологічного, імуногістохімічного і морфометричного досліджень були ділянки міокарда лабораторних тварин.

© Грамятук С. М., Іванова Ю. В., Естрін С. І., М'ясоєдов К. В., Криворучко І. А., Кравченко Т. В., 2025

© 2025 The Authors.

This is an open access article under the CC BY-SA license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

Результати. У тварин з модельованим інфарктом міокарду без лікування формувалася великий рубець, який поширювався на всі пласти міокарда і за своїми властивостями відповідав картині трансмурального інфаркту у людини. При імуногістохімічному фарбуванні на актин і тропонін Т найбільш яскраво візуалізувалася тотальна загибель м'язових волокон в зоні рубцювання. На 30 день стінка ділянки, яка рубцювалася, була повністю представлена сполучною тканиною. В усі терміни знаходили проліферуючі клітини сполучної тканини і судинної стінки. Під час гістологічного дослідження після виконання клітинної кардіоміопластики ми вивчали кількість сполучної тканини, судин і їх якісні характеристики, а також відсоток збереженої маси міокарда і хоумінг стовбурових клітин. За усіма цими ознаками була відмічена позитивна динаміка щодо запобігання процесів ремоделювання постінфарктного серця. При імуногістохімічному забарвленні на актин і тропонін Т ми найбільш чітко бачили чергування ділянок м'язів, які збереглися, і полів рубцевої тканини. Починаючи з 21 доби візуалізували тільки поодинокі проліферуючі клітини в рубці. У тварин після клітинної трансплантації судин було більше на одиницю площі, їх просвіт був менше, вони мали добре сформовану стінку. Морфометричні дослідження показали, що у тварин після трансплантації стовбурових клітин незалежно від способу їх введення практично за усіма показниками, що вивчалися, було досягнуто істотно кращі результати в порівнянні з тваринами групи порівняння ($p < 0,01$).

Обговорення. Трансплантація стовбурових клітин сприяє значному поліпшенню васкуляризації в зоні інфаркту, яке, можливо, призводить до зменшення ішемії в прикордонних з інфарктом зонах, зниження ішемічного ушкодження кардіоміоцитів в цих зонах, що в результаті сприяє зменшенню площі рубця і попередження формування аневризми серця. Трансплантовані клітини активно беруть участь у формуванні судин і сполучної тканини в зоні рубцювання, яке завершується на 21 добу експерименту. Клітинна кардіоміопластика значно покращує структуру постінфарктного серця, що проявляється в зменшенні зони рубця і сполучної тканини відповідно, збільшенні кількості судин і відсотка збережених м'язових волокон. Найкращі результати були досягнуті при інтраміокардіальному введенні, що вимагає підтвердження даного факту при клінічному дослідженні.

Висновки. Клітинна кардіоміопластика при будь-якому способі введення клітинного трансплантата позитивно впливає як на морфологічний субстрат серця у вигляді зменшення розмірів рубця при постінфарктному ремоделюванні, збільшення кількості новостворених судин і збільшення відсотка збережених кардіоміоцитів. Це відбувається за рахунок хоумінгу МСК в зону ішемії та спільності двох механізмів – безпосереднього диференціювання в клітини ендотелію судин серця, а також за рахунок паракринного ефекту.

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, гострий інфаркт міокарда, стовбурові клітини, клітинна кардіоміопластика, експеримент.

Вступ

Ішемічна хвороба серця (ІХС) займає перше місце серед серцево-судинних захворювань за частотою ускладнень і кількості летальних наслідків. В США вона слугує причиною кожної п'ятої смерті. В Україні діагноз ішемічної хвороби серця встановлюють приблизно 400 тис. пацієнтам щорічно [1]. Традиційні методи ліку-

вання цієї категорії пацієнтів, які існують на теперішній час це: медикаментозна терапія, пряма реваскуляризація міокарда, а також трансплантація серця. Існуюча на теперішній час медикаментозна терапія зазвичай є недостатньо ефективною у запобіганні процесів ремоделювання міокарда [2].

Існує велика група хворих, яким по тим чи іншим причинам (дистальна оклюзія, високий ризик операції, технічні проблеми і т.і.) неможливо виконати пряму реваскуляризацію міокарда. Крім того, існує група пацієнтів зі зворотною, прогресуючою стенокардією, у яких операція аортокоронарного шунтування вже була виконана, а повторна операція неможлива [3]. Існує також низка невирішених питань стосовно донорів на трансплантацію серця, етичні аспекти, які в значній мірі знижують можливість своєчасного виконання трансплантації серця [4, 5, 6].

Сучасні дослідження в області біології стовбурової клітини (СК) кардинально змінили усі уявлення про регенеративні здатності міокарда та стали початком нового терапевтичного напрямку – клітинної кардіоміопластики, який спрямований на заміщення пошкоджених кардіоміоцитів шляхом імплантації аутологічних СК [7]. На протязі останніх років ця процедура була впроваджена в клінічну практику задля поліпшення результатів лікування пацієнтів з ішемічною дисфункцією міокарда.

Однак, багато фундаментальних питань клітинної терапії залишаються відкритими: механізми хоумінгу, диференціювання і приживлення трансплантованих СК, роль клітинного злиття і механізми впливу трансплантованих клітин на функцію і метаболізм серцевого м'яза. Залишається також предметом дискусії найбільш ефективний спосіб доставки клітин в міокард [8].

Мета

Оцінити в експерименті вплив клітинної кардіоміопластики на процеси ремоделювання постінфарктного міокарда залежно від шляхів введення аутологічних стовбурових клітин і дослідити механізми хоумінгу.

Матеріали і методи

Експеримент виконувався на 142 крисях лінії Вістар-Кайота, вагою 200–220 г, які містилися в умовах віварію ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В. Т. Зайцева НАМНУ України». Тварини утримувались у в умовах 12-годинного світлового дня, кімнатної температури і доступу до води та їжі *ad libitum* при температурі повітря від +20 до +22 °С, вологості не більше 50 %, у світловому режимі – день-ніч. Використання тварин в експерименті проходило відповідно з правилами, регламентованими «Європейською конвенцією по нагляду і захисту хребетних тварин, які

використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європейської Співдружності від 24.11.86 р. та розпорядження МОЗ України № 32 від 22.02.88 р.

Індукцію інфаркту міокарда (ІМ) здійснювали в експериментальній операційній в умовах загального знеболення (кетамін, 12,5 мг/100 г маси тіла внутрішньом'язово). В положенні тварини на спині виконували стернотомію, перикардіотомію, після чого прошивали і перев'язували передню міжшлуночкову артерію. Стернотомну рану ушивали пошарово. Під час операції температура тіла тварин підтримувалась на рівні $37,0 \pm 0,5$ °С за рахунок зовнішнього джерела тепла. 22 тварини померли в перші години після моделювання патологічного стану в наслідок розвитку життєзагрожуючих аритмій. Таким чином, експериментальне дослідження проводилася на 120 тваринах, які були розділені на 6 груп (по 20 в кожній серії). В п'ять груп дослідження увійшли самиці (по 20 в кожній серії). Окрему групу становили 20 самок яких ми використовували в якості донорів мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) задля подальшого дослідження по Y-хромосомі хоумінгу клітин в організмі. З п'яти груп: в 1-й групі не проводили будь-якого лікування, в 2-й виконували «порожні» ін'єкції в міокард в область зони ішемії, яку визначали макроскопічно, в 3-й групі проводили ін'єкції МСК в дозі 10 млн клітин, в 4-й групі МСК вводили внутрішньовенно в такій же дозі шляхом пункції хвостової вени, в 5-й групі МСК вводили в порожнину лівого шлуночка шляхом пункції і проведення катетера крізь праву стегнову артерію (таким чином намагалися створити максимальну концентрацію СК у вусті коронарної судини.

МСК клітини отримували з периферичної крові тварин за наступною методикою. З хвостової вени тварини шприцом із змістом 0,5 мл фосфатно-буферного розчину, 50 од/мл гепарину і 0,25 мг/л гентаміцину сульфату набирали 0,5 мл крові. Об'єм крові, яку брали у тварин, був допустимим і безпечним, оскільки не перевищував 10 % об'єму циркулюючої крові (13,75–17,50 мл для щурів, виходячи з рекомендацій щодо безпечного забору крові у мишей і щурів Національного інституту здоров'я США). Суспензію клітин центрифугували при 1500 об./хв 5 хв, осад клітин ресуспендували в розчині для лізису еритроцитів (114 мМ хлориду амонію, 7,5 мМ гідрокарбонату, 100 мкМ EDTA^{***}) впродовж 3 хв і повторно центрифугували. Гемолізований супернатант видаляли, а клітинний осад ресуспендували в середовищі DMEM, що містило 10 % телячу ембріональну сироватку (HyClonegold, США), інсулін 0,4 мкМ^{***} і 0,25 мг/л гентаміцину сульфату. Отримані клітини висівали в культуральні флакони і переносили до CO₂-інкубатора

з 5 % концентрацією вуглекислого газу і 95 % вмістом атмосферного повітря з підвищеною вологістю. Через 2 доби після виділення первинної культури клітинну суспензію, що не прикріпилася, видаляли, а решту клітин з фібробластоподібною морфологією продовжували культивувати. Культуральне середовище заміняли свіжим через кожні 3–4 доби. Після утворення 75–80 % моношару клітини одноразово відмивали розчином Версена, а потім знімали розчином Версена з 0,25 % розчином трипсину, ресуспендували в ростовому середовищі і розливали в новий культуральний посуд. Клітинний матеріал, що являв собою розпластані фібробластоподібні клітини (мезенхімальні стромальні клітини), фіксовані на пластику, зберігав популяційну активність і не містив загиблих клітин, вважали придатним для використання. Стромальне походження СК було підтверджене імуногістохімічним методом у культурі шляхом виявлення колагену I типу за допомогою кролячих моноклональних антитіл. Для експерименту використали МСК першого і другого пасажів. Життєздатність МСК визначали перед їх уведенням за забарвленням трипановим синім. Для цього в суспензію клітин додавали 0,1 % розчин трипанового синього і через 2–3 хв рахували живі клітини у фазово-контрастному мікроскопі без фарбування їх мембран.

Щурів виводили з експерименту шляхом передозування кетаміну на 1, 3–4, 7, 21 і 30–35 добу для проведення морфологічних досліджень, матеріалом для яких були ділянки. Гістологічне дослідження проводилося шляхом мікроскопії зі збільшенням $\times 100$ – $\times 400$ із попереднім забарвленням гістологічних препаратів гематоксиліном та еозином з метою характеру змін у міокарді. Матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні, після чого він підлягав спиртовій проводці та парафіновій заливці, виготовляли зрізи товщиною 5–6 мкм. Оглядові препарати, які забарвлені гематоксиліном та еозином, використовувалися для загальної оцінки стану тканин, що досліджувалися. Забарвлення препаратів фукселіном на еластичні волокна за Вейгертом з дозбарвленням пікрофуксином за методом Ван Гісона, а також забарвлення за Маллорі використовувалися для виявлення та диференціювання сполучнотканинних структур.

Для кількісного аналізу стану рубця ми проводили морфометричне дослідження. Теоретично можливу площу міокарда в тотальному зрізі вираховували за формулою:

$$S = \pi (R_2^2 \text{зовнішній} - r_2^2 \text{внутрішній}).$$

Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах, товщиною 5–6 мкм непрямым методом Кунса за методикою Brosman.

Статистичну обробку даних результатів експериментального дослідження проводили на комп'ютері Pentium V Core Due 2 за допомогою ліцензійного пакету програм Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0.

Результати

До кінця 1 доби моделювання гострого ІМ в зоні ішемії спостерігалися всі ознаки, характерні для стадії альтерації при запальній реакції, яка супроводжувалась набуханням і набряком кардіоміоцитів, при цьому з'являлися перші ознаки дистрофії і початкові дегенеративні ознаки. Кардіоміоцити починали втрачати свою поперечну посмугованість, в інтерстиціальній тканині і між м'язовими волокнами з'являлися клітинні інфільтрати, які містили нейтрофіли, моноцити і лімфоцити. В судинах мікроциркуляторного русла спостерігався стаз клітин крові, крововиливи і лейкоцитарна інфільтрація. Чітких кордонів некрозу в цей термін не спостерігалося.

До 3–4 доби відзначалося продовження перебігу класичної запальної реакції у вигляді інфільтрації зони пошкодження тканинними макрофагами, лейкоцитами і лімфоцитами, також виявлялося утворення грануляційної тканини у вигляді бар'єра навколо зони пошкодження, де відзначалися явища міоцитоліза (рис. 1).

Одночасно з цим спостерігалася підвищена активність стромального компонента у вигляді проліферації клітин строми і активації

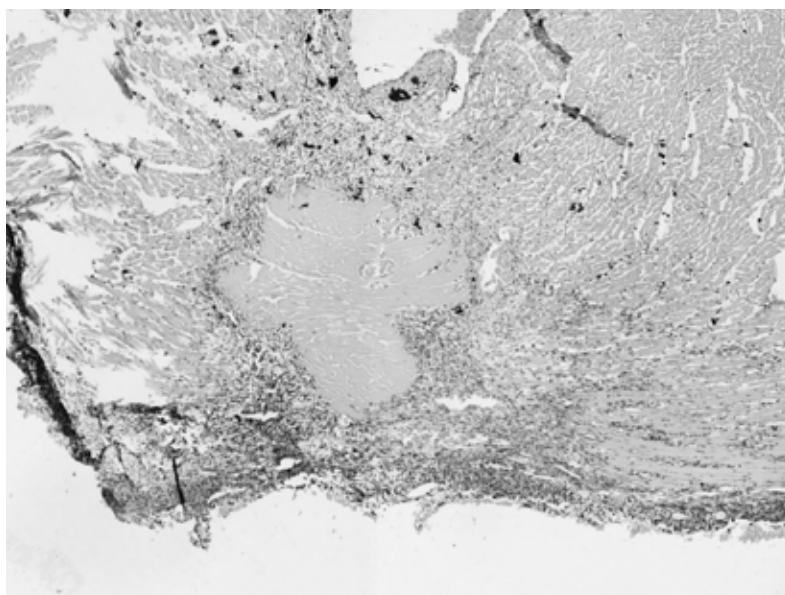


Рис. 1. Коагуляційний некроз міокарда у щура без лікування на 3 добу після перев'язки передньої лівої міжшлуночнової артерії. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 10$.

ендотеліоцитів і з'являлися явища формування рубця у вигляді синтезу колагену без утворення колагенових волокон. Короткі товсті колагенові структури були орієнтовані правильно. ІМ прогресував в результаті периферичного міоцитоліза, що значно розширювало зону ураження. У позаінфарктній зоні спостерігався набряк кардіоміоцитів і формування сладжу еритроцитів в капілярах.

До 7 доби після моделювання патологічного стану визначалася організація інфаркту: у зоні пошкодження спостерігалися окремі острівці кардіоміоцитів, які зазнали міоцитолізу, процес інфільтрації зменшувався, в зоні пошкодження було набагато менше макрофагів, лейкоцитів, лімфоцитів, ніж на 3–4 добу. М'язові клітини починали піддаватися резорбції, ймовірно, за рахунок фагоцитозу і виділення лізосомальних ферментів. Спостерігалися також початкові етапи формування сполучної тканини в зоні пошкодження. У товщі формувалася сполучна тканина, виявлялися множинні молоді тонкостінні судини і фібробласти. Слід підкреслити, що проліферативна реакція з боку сполучної тканини виникала саме в той період, коли замість гранулоцитів в міокарді починали переважати мононуклеарні клітини (моноцити, макрофаги і лімфоцити). У центральних ділянках некротичної області відбувалася побудова колагенових волокон, а поза зоною ушкодження спостерігалася функціональне навантаження і інтрацелюлярний набряк кардіоміоцитів.

До 21 доби процес інфільтрації закінчувався і тканинні макрофаги, лейкоцити і лімфоцити визначалися тільки в периваскулярному просторі. У зоні пошкодження відбувалося активне формування і структуризація рубцевої сполучної тканини, колагенових волокон і невеликої кількості окремих еластичних волокон, у сполучній тканині було виявлено велику кількість судин синусоїдного типу з тонкою стінкою, що легко розтягувалася. В патологічні процеси були залучені не тільки зону некрозу, а й кардіоміоцити в прикордонній області, де відзначався інтерцелюлярний набряк. Набряк провокувався ситуацією «по reflow», коли в зоні, яка знаходиться поза перев'язки, порушувався кровотік, оскільки судини здавлювалися кардіоміоцитами. В такому випадку існує висока ймовірність повторного інфаркту в інтактній зоні.

До 30–35 діб в зоні некрозу формувалася рубцева тканина, сполучна тканина містила судини синусоїдного типу, у прикордонній зоні спостерігалися ознаки прогресуючого периферичного пошкодження міокарда: інфільтрація, активація стромального компонента, формування грануляційної тканини. У позаінфарктній зоні відбувалося функціональне навантаження і набряк кардіоміоцитів.

Таким чином, у тварин без лікування формувалася великий рубець, який поширювався на всі пластів міокарда і за своїми властивостями нагадував картину трансмурального ІМ у людини (рис. 2).

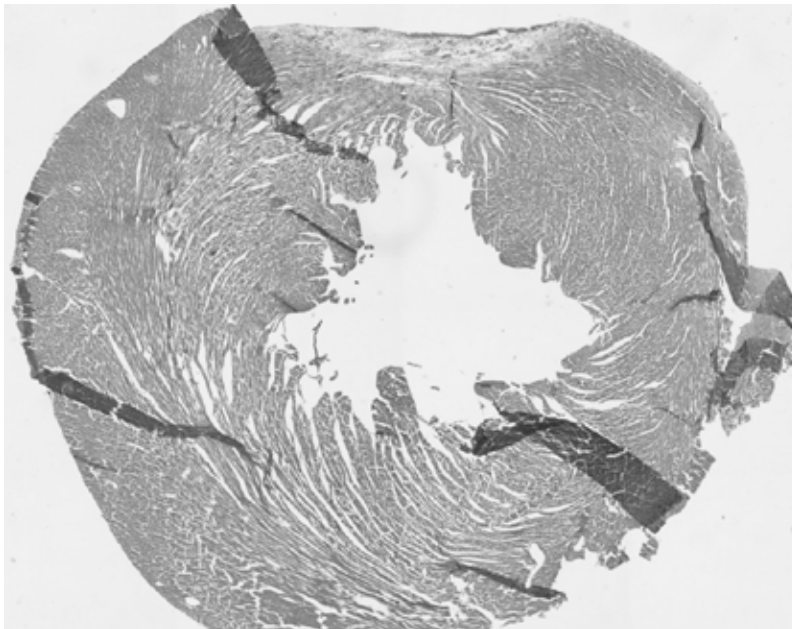


Рис. 2. Ділянка міокарда, яка рубцюється, на верхівці лівого шлуночка на 30 добу експерименту у щура без лікування. Визначається великий рубець з формуванням аневризми. Забарвлення гематоксиліном і еозином, х5.

З огляду на те, що експериментальний ІМ у щурів супроводжувався хірургічним втручанням у вигляді прошивання і перев'язки коронарної судини, то у деяких тварин спостерігався перикардит як наслідок розрізу перикарда і асептичне запалення як реакцію на стерильний шовний матеріал в місці перев'язки. Відповідно, якщо в зону прошивання потрапляв епікардіальний шар міоцитів, то спостерігався коагуляційний некроз в зоні лігатури.

При імуногістохімічному фарбуванні на актин і тропонін Т найбільш яскраво візуалізувалася тотальна загибель м'язових волокон в зоні рубцювання. На 30 день стінка ділянки, яка рубцювалася, була повністю представлена сполучною тканиною. При цьому, в усі терміни дослідження було виявлено проліферуючі клітини сполучної тканини і судинної стінки, що свідчило про те, що на даний термін ще тривають процеси неповної регенерації і ремоделювання (рис. 3–5). Також звертала на себе увагу безліч судин синусоїдного типу в ранні терміни після інфаркту, які пізніше набували стінку, але тим не менше їх просвіт залишався широким.

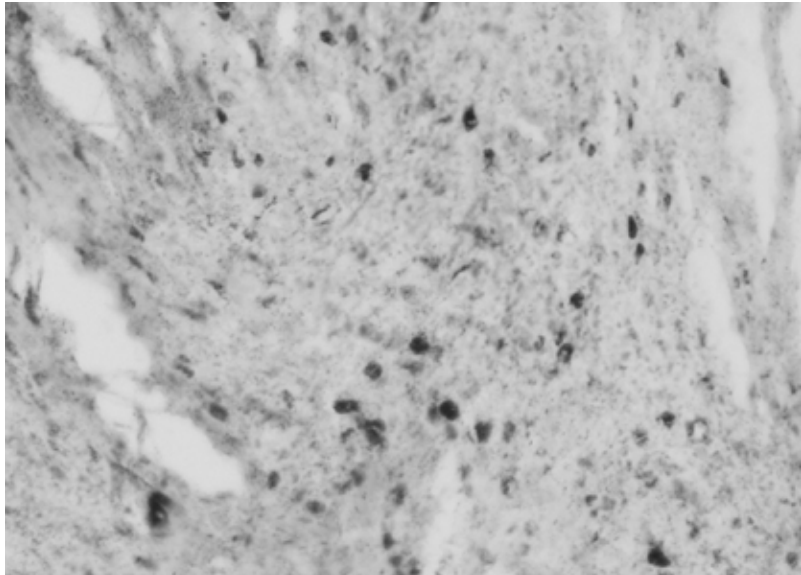


Рис. 3. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у щура без лікування. Великий рубець зі збереженням одиничних пучків м'язових волокон в субепікардіально відділах. ІГХ-зabarвлення з антитілами до тропоніну Т, х30.

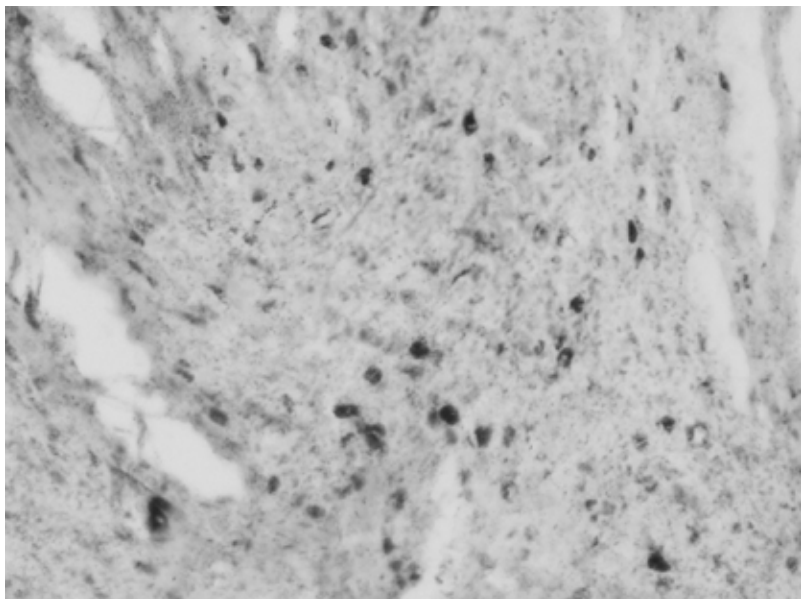


Рис. 4. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у щура без лікування. Великий рубець з великою кількістю клітин сполучної тканини, яка проліферує. ІГХ-зabarвлення з антитілами до PCNA, х150.

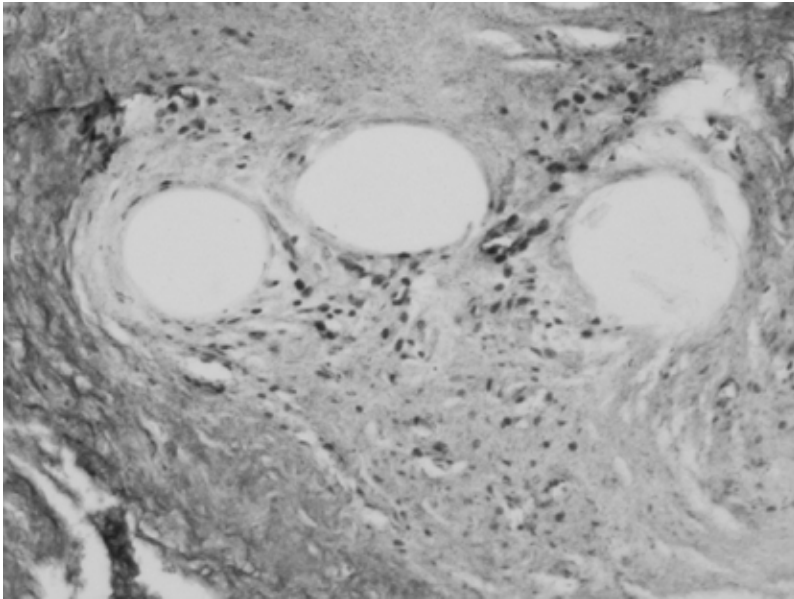


Рис. 5. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у щура без лікування. Активна проліферація клітин сполучної тканини навколо судин. ІГХ-зabarвлення з антитілами до PCNA, x75.

Під час гістологічного дослідження після виконання клітинної кардіоміопластики нами було вивчено кількість сполучної тканини, судин і їх якісні характеристики, а також відсоток збереженої маси міокарда і хоумінг МСК.

Слід зазначити, що вже при якісному морфологічному дослідженні після трансплантації аутологічних МСК визначалася істотна відмінність морфологічної картини в пошкодженій ділянці. Перш за все, в ділянці інфаркту спостерігали чергування ділянок м'язів, які збереглися, і полів рубцевої тканини. Дані зміни підтверджуються тим, що в жодному випадку після трансплантації МСК ми не спостерігали формування аневризм. При імуногістохімічному забарвленні на актин і тропонін Т найбільш чітко візуалізувалося чергування ділянок м'язів, які збереглися, і полів рубцевої тканини (рис. 6, 7). Крім того, починаючи з терміну 21 доби ми візуалізували тільки поодинокі проліферуючі клітини в рубці, що свідчить про завершеність процесу рубцювання на даний термін. Також привертав увагу різний стан судин у тварин, які отримували і не отримували лікування МСК: у щурів після клітинної трансплантації судин було більше на одиницю площі, їх просвіт був менше, вони мали добре сформовану стінку.

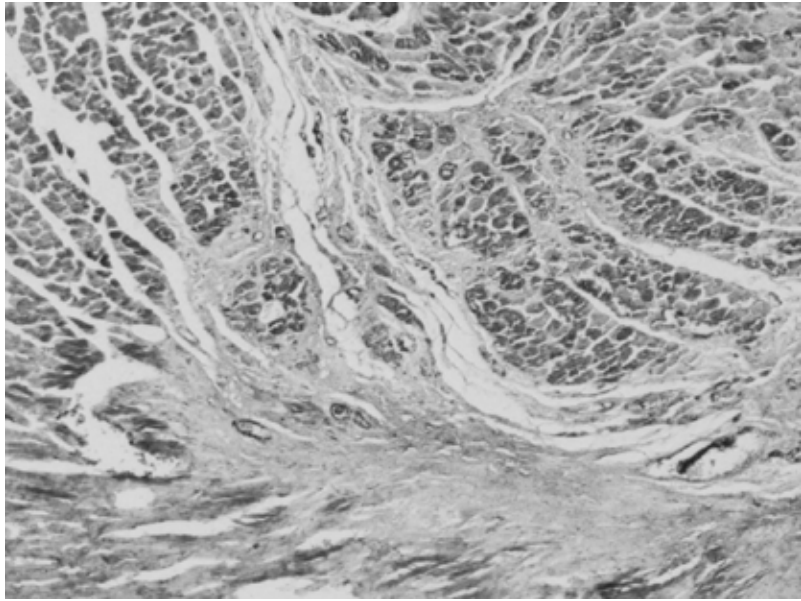


Рис. 6. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у щура після трансплантації МСК. Рубець на місці інтрамурального інфаркту. ІГХ-зabarвлення з первинними антитілами до тропоніну Т, х30.

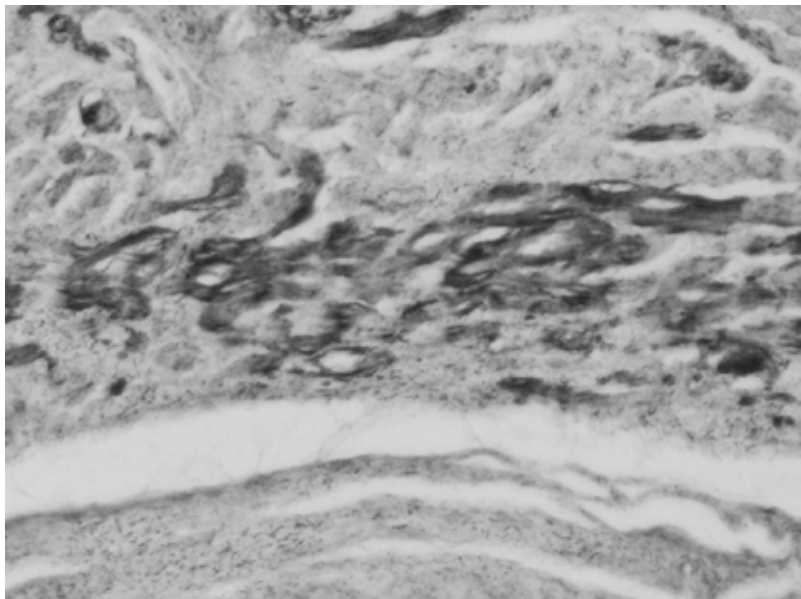


Рис. 7. Ділянка міокарда, який рубцюється, на 30 добу експерименту у щура після трансплантації МСК. Чергування збережених пучків кардіоміоцитів і рубцевої тканини. ІГХ-зabarвлення з первинними антитілами до актину, х150.

При використанні гібридизації *in situ* у щурів-самок ми виявили в рубці, який формується, клітини з наявністю Y-хромосоми в ядрі, тобто клітини-наступників пересаджених МСК. При фарбуванні тканин самок, яким трансплантацію не виконували, ми не спостерігали ніякого забарвлення при використанні проб до Y-хромосоми (рис. 8), але контрольне забарвлення 12 хромосоми було позитивним як у самок, так і у самців. Клітини з Y-хромосомою ми виявляли серед ендотеліальних клітин, в стінці судин, які формуються, і серед фібробластів рубця (рис. 9–11). У сусідніх з рубцем пучках міокарда ми не виявляли позитивних клітин.

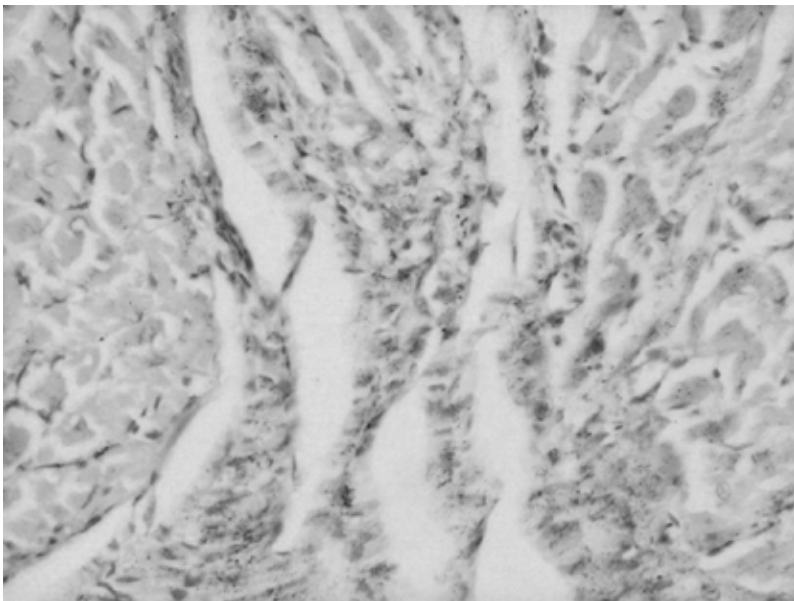


Рис. 8. Щур без трансплантації. Клітини в рубці не містять Y-хромосоми. Гібридизація *in situ* з маркером до Y-хромосоми, $\times 150$.

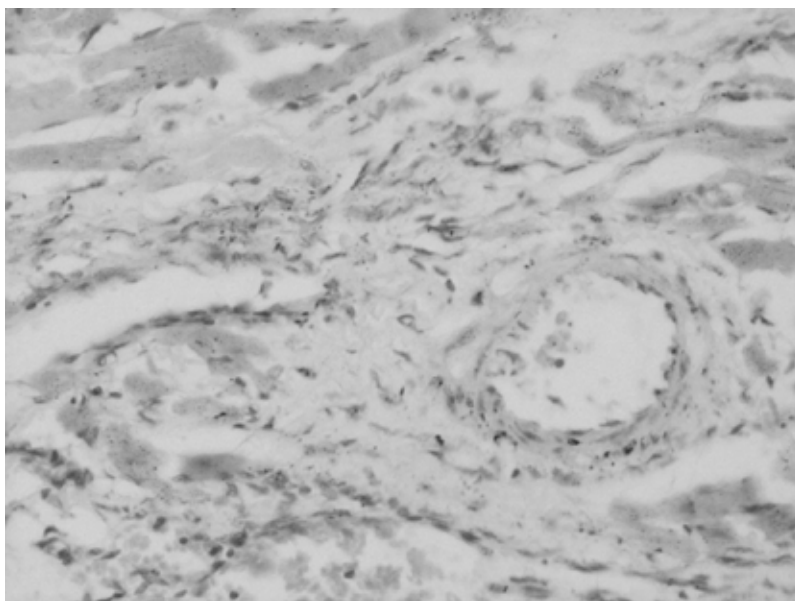


Рис. 9. Шур без трансплантації. Клітини в рубці і стінках судин не містять Y-хромосому. Гібридизація *in situ* з маркером до Y-хромосому, x150.

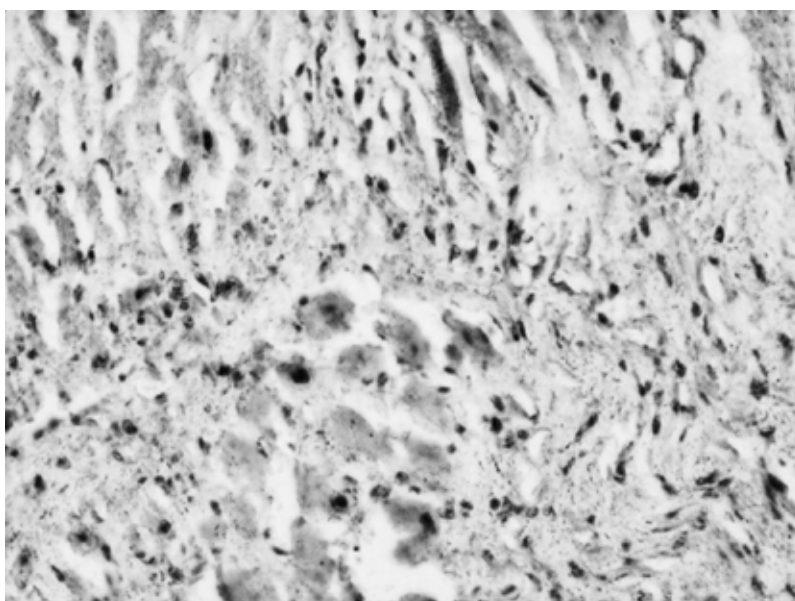


Рис. 10. Позитивний контроль (12 хромосома) в міокарді щура після трансплантації МСК на 30 добу. Гібридизація *in situ* з маркером до 12 хромосомі, x150.

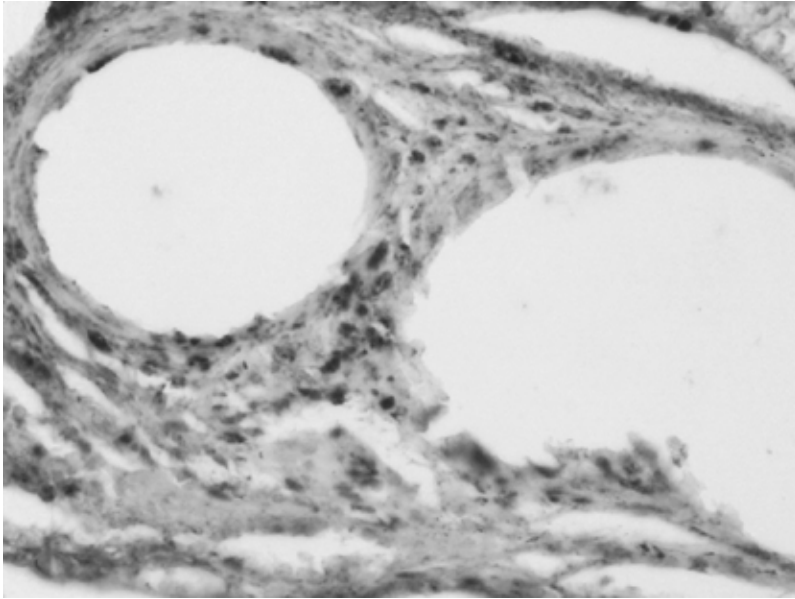


Рис. 11. Клітини, які містять Y-хромосому, в стінках судин і сполучної тканини навколо них у щурів-самок на 30 день після трансплантації МСК. Гібридизація *in situ* з маркером до Y-хромосомі, $\times 180$.

Для кількісного аналізу стану рубця нами було проведено морфометричне дослідження. Обчислювали питомий обсяг рубця шляхом ділення його площі в зрізі на теоретичну первісну площу і морфометрично обчислювали питомий обсяг сполучної тканини і судин в рубці (рис. 12–13).

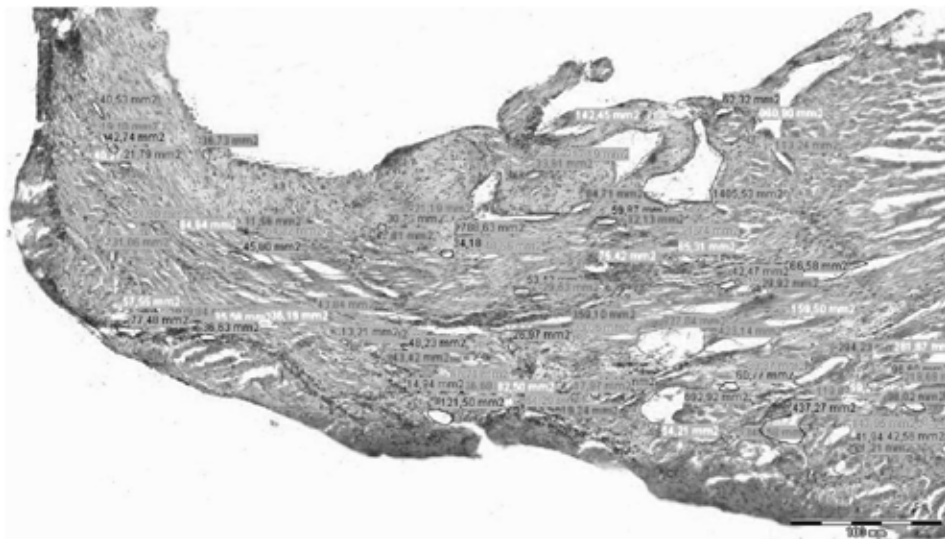


Рис. 12. Інфаркт міокарда з формуванням рубця. Морфометрія судин.

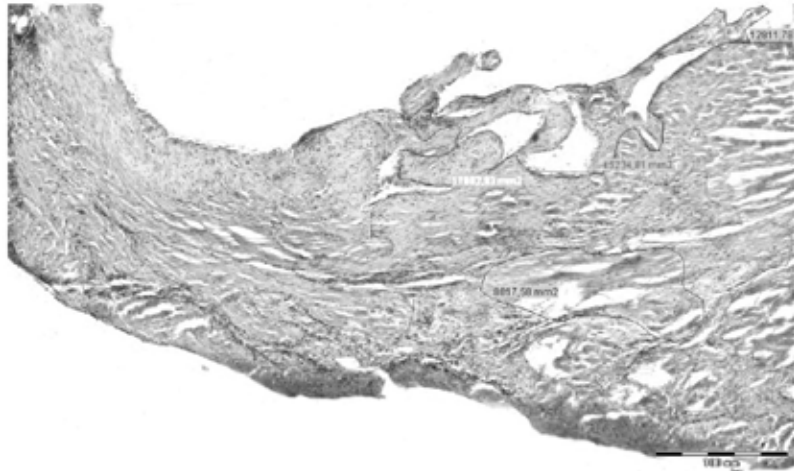


Рис. 13. Інфаркт міокарда. Морфометрія сполучної тканини.

Як свідчать наведені в таблиці 1 дані, в 3, 4 і 5 групах тварин після трансплантації МСК практично за усіма показниками, що вивчалися, було досягнуто істотно кращі результати в порівнянні з тваринами групи 1, при цьому рівень достовірності відмінностей був зазвичай менше 0,01.

Таблиця 1. Аналіз результатів морфометричного дослідження

Показник	Групи тварин				
	1	2	3	4	5
Питомий обсяг ділянки інфаркту від вихідної тканини, %	65,83	61,21	19,05 ^{***}	24,02 ^{***}	32,03 ^{**}
SD	8,21	3,45	2,29	1,04	4,6
Питомий обсяг сполучної тканини, включаючи судини, %	33,78	30,12 [*]	15,21 ^{***}	17,73 ^{**}	23,4 [*]
SD	1,72	2,21	1,8	5,69	4,2
Питомий об'єм судин, %	6,32	6,78	10,1 ^{**}	9,42 [*]	8,1 [*]
SD	0,16	1,1	2,4	3,33	2,3
Середня кількість судин на 100000 мкм ²	10,21	13,12 [*]	72,99 ^{***}	68,20 ^{***}	44,9 ^{**}
SD	1,26	1,51	3,1	4,64	5,3
% збережених м'язових волокон (від вихідного)	15,90	20,2 [*]	49,2 ^{***}	45,04 ^{**}	37,8 ^{**}
SD	0,28	1,2	3,2	9,81	6,1

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – між досліджуваною групою і 1 групою.

Особливо вражаючі результати отримані при дослідженні середньої кількості судин на 100 тис. мкм² (10,21 ± 1,26 без лікування в порівнянні з 68,2 ± 4,64 у щурів з моделлю гострого ІМ після введення МСК – 4 група). У тварин без лікування визначалися широкі судини з великим просвітом, тоді як у nelaкованих тварин це були судини невеликого діаметру. Тому ми також вираховували питому кількість судин на 100 000 мкм² тканини рубця. Таким чином, кількість судин на 100 тис. мкм² в групі з трансплантацією МСК стало в 6 разів більше. Слід враховувати, що питомих обсяг ділянки ІМ в 1 групі склав (65,89 ± 8,21) %, а в 3 групі – (24,02 ± 1,04) %, тобто площа інфаркту міокарда зменшилася майже в 3 рази. Сприятлива динаміка з боку судин супроводжувалася істотним поліпшенням показників: зменшенням обсягу сполучної тканини в зоні ІМ з 33,78 до 17,73 % (в 1,9 рази), збільшенням відсотка збережених м'язових волокон з 15,9 до 45,04 % (в 2,8 раз).

Отже, трансплантація МСК при експериментальному ІМ у щурів призводить до зменшення зони ІМ в 3 рази, при цьому сполучнотканинний компонент зони інфаркту зменшився в 1,9 рази, за рахунок збільшення кількості судин в 6 разів і збереження м'язових волокон в 2,6 рази більше ніж в 1 групі.

У 2 групі в порівнянні з показниками 1 групи фактично залишилися незмінними досліджувані показники за винятком питомого обсягу сполучної тканини, включаючи судини, який в 1 групі дорівнював (33,78 ± 1,72) %, а в 2 групі менше – (30,12 ± 2,21) %. Так само збільшилася середня кількість судин на 100000 мкм² в порівнянні з 1 групою з (10,21 ± 1,26) до (13,12 ± 1,51), до того ж, відсоток збережених м'язових волокон був на 4,3 вище у 2 групі. Таким чином, загалом, ймовірно, пошкодження міокардіоцитів все ж таки підсилювало ангиогенез, що призводило до поліпшення перфузії серця і збереження повноцінної м'язової тканини.

У 3 групі були досягнуті найкращі показники, що виражалося як в збільшенні або зменшенні досліджуваних параметрів при морфометрії. Так, питомих обсяг ділянки інфаркту від вихідної тканини дорівнював (19,05 ± 2,29) % проти (65,83 ± 2,29) % в 1 групі. Питомий обсяг сполучної тканини, включаючи судини, який в 3 групі дорівнював (15,21 ± 1,8) %, в 1 групі значно більше – (33,78 ± 1,72) %. Збільшилася середня кількість судин на 100000 мкм² в порівнянні з 1 групою з (10,21 ± 1,26) до (72,99 ± 3,1), до того ж, відсоток збережених м'язових волокон був на 33,3 % вище у 3 групі.

У 5 групі тварин питомих обсяг ділянки інфаркту від вихідної тканини дорівнював (32,03 ± 4,6) % проти (65,83 ± 2,29) % в 1 групі. Питомий обсяг сполучної тканини, включаючи судини, який в 5 групі дорівнював (23,4 ± 4,2) %, в 1 групі значно був

більше – $(33,78 \pm 1,72)$ %. Збільшилася середня кількість судин на 100000 мкм^2 в порівнянні з 1 групою з $(10,21 \pm 1,26)$ до $(44,9 \pm 5,3)$, до того ж, відсоток збережених м'язових волокон був на 21,9 % вище, ніж у щурів 3 групі.

Нами було проаналізовано основні параметри морфометричного аналізу сердець щурів в різних групах. При вивченні даних показників в різних групах нами було виявлено, що питомий обсяг інфаркту (ПОІ) був найменший в 3 групі, причому були досягнуті наступні дані: ПОІ 3 групи менше 2 групи, при $t = 1,98$; $1,9$ і $2,5$ відповідно ($p < 0,05$). В даних питомого обсягу сполучної тканини в 3 і 4 групах різниці не було, так само не було її між 4 і 5 групою, але показники 5 групи були менше 3 групи при $t = 1,99$ і $p < 0,05$. Цікавим виявився той факт, що питомий обсяг судин був практично однаковим в 3, 4 і 5 групах. Кількість судин в 3 і 4 групі була співставною, а в 5-1 – менша, ніж в 4 групі при $t = 3,3$ і $p < 0,01$ і, відповідно, в 3 групі їх було більше в порівнянні з 5 групою при $t = 4,6$ і $p < 0,00$. Кількість судин на 100000 мкм^2 в 3 і 4 групі була практично однаковою, в 5 групі їх було значно менше, ніж в 3 і 4 групах при $t = 3,3$ і $4,6$ відповідно і $p < 0,001$. Відсоток збережених м'язових волокон також не відрізнявся в 3 і 4 групах, але в 5 групі був менше в порівнянні з 3 групою при $t = 1,96$ і $p < 0,05$.

Обговорення

Експериментальне моделювання гострого ІМ в поєднанні з сучасними і класичними методами дослідження незамінне в рішенні проблеми для розуміння патоморфологічних механізмів розвитку даного захворювання у людей і розробки нових способів його лікування. Лігування передньої лівої міжшлуночкової артерії у лабораторних тварин призводило до утворення послідовних змін, які нагадують картину гострого ІМ у людини. Нами в експерименті був запропонований новий підхід для посилення регенерації міокарда, заснований на трансплантації стовбурових клітин, який при модельованому ІМ показав свою ефективність і перспективність для лікування наслідків ішемії міокарда. У сучасній літературі залишається відкритим головне питання – яким є механізм протекторної дії стовбурових клітин. Важливо відзначити, що існує досить велика кількість типів стовбурових клітин, які можна охарактеризувати по потентності, джерела походження та ін. Мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини є одними з найбільш привабливих типів клітин для клітинної терапії в зв'язку з їх доведеними кардіопротекторними властивостями і низькою імуногенністю [9]. На сьогоднішній день дослідники СК розділилися на два табори: ти, хто вважає, що після введення в організм стовбурові клітини і клітини-попередники диференціюються і замі-

щастю загинуть або пошкоджені клітини; і тих, хто вважає головною паракринну активність СК і клітин-попередників, тобто синтез і секрецію певних сигнальних молекул, ключовими в реалізації терапевтичного ефекту цих клітин [10]. Обидві групи вчених визнають позитивний терапевтичний ефект від введення стовбурових або прогеніторних клітин при лікуванні патологічних станів різних органів. Вивчення протекторних ефектів в декількох дослідженнях, проведених на крисах, показало, що введення МСК після експериментального інфаркту призводить до зменшення його обсягу і поліпшенню функціонального відновлення міокарда. У нашому дослідженні трансплантація МСК, виділених з периферичної крові, через 24 годин після моделювання патологічного стану також привела до зниження обсягу пошкодження серцевого м'яза.

Трансплантація МСК сприяє значному поліпшенню васкуляризації в зоні інфаркту, яке, ймовірно, призводить до зменшення ішемії в прикордонних з інфарктом зонах, зниження ішемічного ушкодження кардіоміоцитів в цих зонах, що в результаті сприяє зменшенню площі рубця і попередженню формування аневризми серця. Доведено також, що трансплантовані клітини активно беруть участь у формуванні судин і сполучної тканини в зоні рубцювання, яке завершується на 21 добу після моделювання ІМ. При звичайному морфологічному дослідженні ми не визначили значущих відмінностей між групами тварин після трансплантації МСК. При дослідженні міокарда тварин після внутрішньовенного введення культури МСК ми візуалізували зміни, аналогічні таким у тварин без трансплантації. Тому для об'єктивізації відмінності між групами тварин ми провели морфометричні дослідження.

Було встановлено, що клітинна кардіоміопластика значно покращує структуру постінфарктного серця, що проявляється в зменшенні зони рубця і сполучної тканини відповідно, збільшенні кількості судин і відсотка збережених м'язових волокон. Найкращі результати були досягнуті при інтраміокардіальному введенні.

За нашими даними при інтракоронарному введенні МСК, які володіють високими адгезивними властивостями, відбувається часткове тромбування судин мікроциркуляторного русла, що призводить до розширення зони ішемії. Інтраміокардіальне введення супроводжується максимальною концентрацією клітинного трансплантата локально в зоні ішемії і гібернуючого міокарда, що підсилює лікувальний ефект. Внутрішньовенне введення трансплантата продемонструвало середні показники між двома вищезгаданими методами введення клітинного трансплантата.

Висновки

Клітинна кардіоміопластика при будь-якому способі введення клітинного трансплантата позитивно впливає як на морфологічний

субстрат серця у вигляді зменшення розмірів рубця при постінфарктному ремоделюванні, збільшення кількості новостворених судин і збільшення відсотка збережених кардіоміоцитів. Це відбувається за рахунок хоумінгу МСК в зону ішемії та спільності двох механізмів – безпосереднього диференціювання в клітини ендотелію судин серця, а також за рахунок паракринного ефекту.

Стаття надійшла в редакцію / Received: 01.08.2025

Отримання позитивної рецензії 10.08.2025

Прийнято до друку / Accepted: 14.08.2025

Effect of Cell Therapy on Morphological and Morphometric Characteristics of the Heart in Experimental Myocardial Infarction

S. M. Gramatiuk, Yu. V. Ivanova, S. I. Estrin, K.V. Miasoiedov, I. A. Kryvoruchko, T. V. Kravchenko

Institute of Bio-Stem Cell Rehabilitation, Ukraine Association of Biobank
Kharkiv National Medical University

State Institution "V. T. Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"

Abstract

Ischemic heart disease ranks first among cardiovascular diseases in terms of the frequency of complications and the number of fatalities. Modern research in the field of stem cell biology has radically changed all ideas about the regenerative abilities of the myocardium and has become the beginning of a new therapeutic direction – cellular cardiomyoplasty, which is aimed at replacing damaged cardiomyocytes.

Materials and methods. The experiment was performed on 142 Wistar-Cayot rats, weighing 200–220 g, which simulated acute myocardial infarction by stitching and ligation of the anterior interventricular artery. The animals were divided into five groups depending on the presence or absence of treatment and the route of administration of stem cells. A separate group consisted of 20 females, which we used as donors of mesenchymal stem cells for further research on the Y-chromosome of cell homing in the body. Stem cells were obtained from peripheral blood by magnetic separation. The material for morphological, immunohistochemical and morphometric studies were sections of the myocardium of laboratory animals.

Results. In animals with simulated myocardial infarction without treatment, a large scar was formed, which spread to all layers of the myocardium and in its properties corresponded to the picture of transmural infarction in humans. With immunohistochemical staining for actin and troponin T, the total death of muscle fibers in the area of scarring was most clearly visualized. On day 30, the wall of the scarred area was completely represented by connective tissue. At all times, proliferating cells of the connective tissue and vascular wall were found. During the histological examination after performing cellular cardiomyoplasty, we studied the amount of connective tissue, vessels and their qualitative characteristics, as well as the percentage of preserved myocardial mass and stem cell homing. According to all these signs, positive dynamics were noted in preventing the processes of remodeling of the post-infarction heart. With immunohistochemical staining for actin and troponin T, we most clearly saw the alternation of preserved muscle areas and scar tissue fields. Starting from day 21, only single proliferating cells were visualized in the scar. In animals after cell transplantation, the vessels were larger per unit area, their lumen was smaller,

and they had a well-formed wall. Morphometric studies showed that in animals after stem cell transplantation, regardless of the method of their administration, in almost all the studied indicators, significantly better results were achieved compared to animals in the comparison group ($p < 0.01$).

Discussion. Stem cell transplantation contributes to a significant improvement in vascularization in the infarct zone, which may lead to a decrease in ischemia in the borderline infarction zones, a decrease in ischemic damage to cardiomyocytes in these zones, which ultimately contributes to a decrease in the scar area and the prevention of the formation of cardiac aneurysms. Transplanted cells actively participate in the formation of blood vessels and connective tissue in the area of scarring, which is completed on the 21st day of the experiment. Cellular cardiomyoplasty significantly improves the structure of the post-infarction heart, which is manifested in the reduction of the scar and connective tissue area, respectively, an increase in the number of vessels and the percentage of preserved muscle fibers. The best results were achieved with intramyocardial administration, which requires confirmation of this fact in a clinical study.

Conclusions. Cellular cardiomyoplasty with any method of cell transplant administration has a positive effect on both the morphological substrate of the heart in the form of a decrease in the size of the scar during post-infarction remodeling, an increase in the number of newly formed vessels and an increase in the percentage of preserved cardiomyocytes. This occurs due to the homing of MSCs to the ischemic area and the commonality of two mechanisms – direct differentiation into endothelial cells of the heart vessels, as well as due to the paracrine effect.

Keywords: ischemic heart disease, acute myocardial infarction, stem cells, cellular cardiomyoplasty, experiment.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

REFERENCES

1. Воронков Л. Г., Березін О. Є., Жарінова В. Ю., Жебель В. М., Коваль О. А., Рудик Ю. С. та ін. Біологічні маркери та їх застосування при серцевій недостатності: Консенсус Всеукраїнської асоціації кардіологів України, Всеукраїнської асоціації фахівців із серцевої недостатності та Української асоціації фахівців з невідкладної кардіології. Український кардіологічний журнал. 2019;26(2):19–30. doi: 10.31928/1608-635X-2019.2.1122
2. Никоненко А. С., Молодан А. В., Иващук В. А. Оценка деформационных свойств миокарда у больных ишемической болезнью сердца с выраженной дилатацией полости левого желудочка, осложненной сердечной недостаточностью. Вісник серцево-судинної хірургії. 2015:135–9
3. Alba AC, Foroutan F, Duero Posada J, et al. Implantable cardiac defibrillator and mortality in non-ischaemic cardiomyopathy: an updated meta-analysis. Heart. 2018; 104 (3): 230–6. doi: 10.1136/heartjnl-2017-311430

-
4. Nanayakkara S, Patel HC, Kaye DM. Hospitalisation in Patients With Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Clin Med Insights Cardiol*. 2018; 12: 1179–89 doi: 10.1177/1179546817751609
 5. Крикунов О. А., Руденко К. В., Руснак А. О., Лучинець О. Ф., Буряк Р. В., Шаповалова В. В. Комплексний підхід до лікування хворих на дилатаційну кардіоміопатію. *Вісник серцево-судинної хірургії*. 2015; 23: 77–82
 6. Blair A. The Use of Left Ventricular Assist Devices in End-Stage Heart Failure. *Crit Care Nurs Q*. 2018; 41 (4): 376–82 doi: 10.1097/cnq.0000000000000223
 7. Габрієлян А. В., Салютін Р. В., Якушев А. В., Оніщенко В. Ф., Шаблій В. М., Доманський Т. М. та ін. Сучасні підходи та методики трансплантації стовбурових клітин хворим з термінальною стадією серцевої недостатності. *Кардіохірургія та інтервенційна кардіологія*. 2014; 1 (6): 8–12.
 8. Nishimura S, Izumi C, Himura Y, Kuroda M, Amano M, et al. Very long-term follow-up data of non-ischemic idiopathic dilated cardiomyopathy after beta-blocker therapy: recurrence of left ventricular dysfunction and predictive value of 123I-metaiodobenzylguanidine scintigraphy. *Heart Vessels [Internet]*. 2018 Aug 24 [cited 2025 Jul 29]. Available from: <http://doi: 10.1007/s00380-018-1245-y>.
 9. Kanda P, Davis D. Cellular mechanisms underlying cardiac engraftment of stem cells. *Expert Opinion on Biological Therapy [Internet]*. 2017 Jul 03 [cited 2025 Jul 29]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14712598.2017.1346080>.
 10. Джолдасбекова А. У., Федотовских Г. В., Аскарров М. Б., и др. Системное введение аутологичных моноклеарных прекультивированных клеток костного мозга при сердечной недостаточности. *Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2015; 3 (37): 14–8