

УДК 616.71–001.3/5–07

© А. Г. Попандопуло, В. В. Буше, В. М. Оксимец, 2013

## МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТРАВМИРУЮЩЕЙ СИЛЫ РАЗЛИЧНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

**А. Г. Попандопуло, В. В. Буше, В. М. Оксимец***Лаборатория клеточного и тканевого культивирования (зав. – д. мед. н, проф. Попандопуло А. Г.), ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В. К. Гусака НАМН Украины». 83045, Украина, г. Донецк, пр. Ленинский, 47. E-mail: v-bushe@mail.ru*

### A MORPHOLOGICAL RESEARCH OF THE BONE TISSUE UNDER THE EFFECT OF TRAUMATIC FORCE OF DIFFERENT INTENSITIES

**A. G. Popandopulo, V. V. Bushe, V. M. Oksimets**

#### SUMMARY

The aim of this experimental work was to undertake a morphological research of the bone tissue and the main osteoreparation cell types taken out of the bone fracture after the effect of traumatic force of different intensities. In the test animals (rats) we simulated a low- and high-energy trauma, then examined the tissue specimens and the morphology of the sources of cells. The cell morphology dependence on the traumatic force energy has been established.

### МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ ДІЇ ТРАВМУЮЧОЇ СИЛИ РІЗНОЇ ИНТЕНСИВНОСТІ

**А. Г. Попандопуло, В. В. Буше, В. М. Оксимец**

#### РЕЗЮМЕ

Метою експериментальної роботи було проведення морфологічного дослідження кісткової тканини із зони пошкодження та клітинних джерел остеорепарації після дії травмуючої сили різної інтенсивності. Експериментальним тваринам (щуром) моделювали низько- та високоенергетичні травми, виготовляли і вивчали гістологічні препарати кісткової тканини й морфологію клітинних джерел остеорепарації. Встановлена залежність між морфологією клітин і інтенсивністю травмуючої сили.

**Ключевые слова:** травма, морфология, периост, эндост, мезенхимальные стволовые клетки.

Возникновение какой бы то ни было болезни возможно лишь при наличии этиологического фактора, выраженность воздействия которого играет определяющую роль в развитии и течении заболевания [5].

В ряде работ авторы пытаются проанализировать и оценить значимость интенсивности травмирующей силы и выявить взаимосвязь между энергетикой травмы и нарушениями процесса консолидации переломов. Так, А. В. Калашниковым [4] было показано, что у 55% больных с нарушением репаративного остеогенеза травма была получена в результате воздействия высокоэнергетического травмирующего агента. По данным Г. В. Гайко с соавт. инвалидность и длительная нетрудоспособность от травм нижних конечностей составляет 36,1%, из которых высокоэнергетическая травма – 63,5% [2]. Однако, не смотря на значительное количество исследований и нерешенность данной проблемы, работ, посвящённых морфологическому исследованию костной ткани после действия травмирующей силы различной интенсивности, найти не удалось. Поэтому, целью работы явилось проведение морфологического исследования костной ткани в зоне перелома и клеточных источников остеорепарации после действия травмирующей силы различной интенсивности.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поведены экспериментальные исследования на белых беспородных крысах обоих полов в соответствии с требованиями биоэтики. Для моделирования низкоэнергетической травмы (первая группа) выполняли остеотомию берцовой кости. Моделирование высокоэнергетической травмы (вторая группа) осуществляли способом, предложенным Попандопуло А. Г. с соавт. [6].

Двадцати животным травмированные сегменты фиксировали параосально и зашивали рану. Выведение этих животных из эксперимента осуществляли на 7 сутки после нанесения травмы, после чего отчленили травмированный сегмент костной ткани и приготавливали гистологические препараты следующим образом: фрагменты, полученные из зоны повреждения костной ткани, фиксировали в формалине, декальцинировали и подвергались гистологическому исследованию по стандартной методике [7].

Восемьдесят животных были выведены из эксперимента через час после нанесения травмы. Из зоны перелома костных фрагментов, выделяли и культивировали клеточные линии клеток периоста, эндоста (методом эксплантов) и МСК КМ (мезенхимальные стволовые клетки костного мозга)

по методу, предложенному Н. Н. Зиньковой с соавт. [3]. Контролем являлись вышеуказанные клеточные линии, полученные от интактных животных (n=20). В процессе культивирования оценивали морфологию пролиферирующих клеток при помощи фазово-контрастной микроскопии.

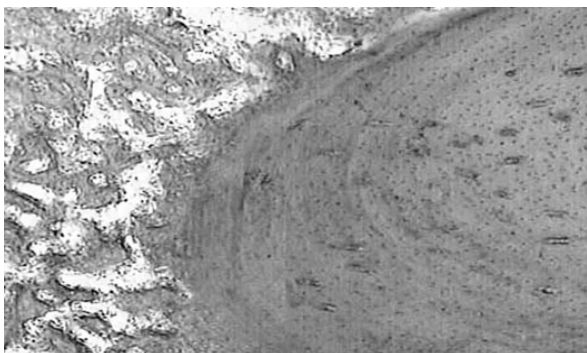
#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе гистоморфологических препаратов образцов костной ткани первой группы было отмечено, что ткань костных фрагментов имела значительное количество клеточных элементов с хорошо прокрашенными ядрами. В области перелома происходило образование примитивных костных балок, характерных для процессов формирования костной мозоли (рис. 1).

При изучении клеточных культур периоста первой группы отмечена активная миграция клеток из эксплантов и их распластывание. При формировании монослоя клетки надкостницы имели веретенообразную форму, плотно прилегали одна к другой и располагались параллельно. Отмечено некоторое увеличение размеров периостальных клеток по сравнению с контролем, которое может быть связано с компенсаторно-приспособительными процессам, происходящими в результате экстремального воздействия на костную ткань, а именно, с усилением синтетических процессов в клетках.

В процессе культивирования клетки эндоста первой группы имели округлую форму, характерную для остеобластных клеток и к концу третьей недели формировали упорядоченный монослой.

Примерно половина костномозговых предшественников первой группы была прикреплена к подложке, но не пролиферировала. Пролиферирующие клетки первичных культур МСК имели небольшой размер и вытянутую форму. К 14-м суткам культивирования отмечено формирование плотных монослоев клетками округлой формы. Данный морфологический тип рассматривается большинством исследователей как «зрелые», переживающие клетки, вступившие на путь дифференцировки [1].



**Рис. 1.** Область костной раны после низкоэнергетической травмы (окраска гематоксилином и эозином, окуляр 10, объектив 10)

При анализе гистоморфологических препаратов костных фрагментов второй группы было отмечено следующее. Клеточных элементов в костной ткани отломков было мало, располагались преимущественно в удаленных участках от линии перелома. В костной ткани возле линии перелома встречались единичные клетки со слабо прокрашенными ядрами. Данные изменения морфологически напоминали картину остеонекроза. Признаков образования костной мозоли в области перелома не отмечалось, репаративные процессы проявлялись в виде формирования грубоволокнистой ретикулярной соединительной ткани, заполняющей костную рану (рис. 2).

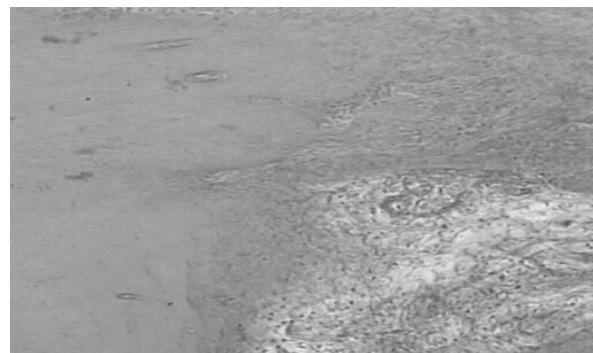
При культивировании клеток надкостницы второй группы клетки имели звездчатую форму с явно выраженными отростками цитоплазмы и формировали монослой сетчатой структуры

Пролиферирующие клетки эндоста второй группы по морфологии напоминали фибробластоподобные клетки. При дальнейшем культивировании эндостальные клетки к концу третьей недели формировали монослой хаотичной структуры, образованный клетками разной формы – от веретенообразных до крупных округлых клеток и клеток неправильной формы с цитоплазматическими отростками.

При микроскопии первичных культур МСК второй группы было отмечено, что количество клеток, адгезировавшихся к пластику, было примерно в 5 раз меньше, чем в контрольной группе. К 14-м суткам культивирования МСК второй группы формировали субконфлуэнт, который по своей структуре напоминал субконфлуэнт, образованный клетками периоста этой же группы.

#### ВЫВОДЫ

Травмы костной ткани низкой интенсивности не приводят к значительным морфологическим изменениям клеточных источников остеорепарации, что создает благоприятные условия для образования специфического костного регенерата на всем протя-



**Рис. 2.** Область костной раны после высокоэнергетической травмы (окраска гематоксилином и эозином, окуляр 10, объектив 10)

жении костного дефекта. При действии травмирующей силы высокой интенсивности происходит гибель значительного количества клеточных источников остеорепарации, а сохранившиеся клетки претерпевают значительные морфологические изменения, что, в свою очередь, приводит к нарушению их нормального функционирования. Эти изменения приводят к нарушениям процессов консолидации перелома и требуют проведения мероприятий по оптимизации репаративного остеогенеза.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина Е. Б. Гетерогенность стромальных клеток-предшественников, выделенных из костного мозга крыс/Е. Б. Анохина, Л. Б. Буракова//Цитология. – 2007 – Т. 49, № 1. – С. 40–47.
2. Аналіз первинної інвалідності при переломах кісток кінцівок та їх наслідків за матеріалами травматологічного МСЕК м. Києва/Г. В. Гайко, А. В. Калашніков, А. А. Курило [та ін.]//Матеріали пленуму асоціації ортопедів – травматологів України, 23–24 вересня 2004 р. Київ-Вінниця. – 2004. – С. 7.
3. Терапия ишемического инсульта головного мозга у крыс с помощью мезенхимных стволовых клеток/Н. Н. Зинькова, Е. Г. Гитлерович, И. Б. Соколова [и др.]//Цитология. – 2007. – Т. 49, № 7. – С. 566–575.
4. Калашніков А. В. Профілактика порушень репаративного остеогенезу/А. В. Калашніков//Вісник ортопедії, травматології та протезування – 2002. – № 2. – С. 54–57.
5. Влияние этиологического фактора травмы на течение репаративного остеогенеза. Часть 4./В. Г. Климовицкий, В. Н. Пастернак, В. М. Оксимец [и др.]//Травма. – 2008. – Т. 9, № 1. – С. 36–39.
6. Пат. 61090 Україна, МПК А61 В 17/56, А61 В 17/16. Спосіб моделювання переломів довгих трубчастих кісток, які тривало не зростаються/заявник Попандопуло А. Г., Буше В. В., Оксимець В. М., Енглезі А. П., Гребенюк А. М., патентовласник ДУ «ІНВХ ім. В. К. Гусака НАМНУ». – З. u201014554, заявл. 06.12.2010, опубл. 11.07.2011, Бюл. № 13.
7. Микроскопическая техника. Руководство/Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.