

UDC 616.62 + 616-089.583.29

REACTION- REPLY OF BLOOD VESSELS OF THE BLADDER IN COLD INJURYOG POPADINETS

Popadinets O.G.

Summary. The results of the study by microscopic of the morphofunctional state of blood vessels of urinary bladder immediately after influence of cold factor and on the 1st, 3rd, 7th, 14th and 30th days after action of general deep hypothermia, which was experimentally performed on 35 mature white bredless rat-males, mass 160-180 g, are represented in the work. In the structural elements successive changes took place: on the height of cold factor and on the 1st, 3rd, 7th days reactive-destructive changes predominate; on 14th day compensative-adaptational manifestations, which in future promote processes of restoring, that we have observed on the 30th day are present.

Key words: urinary bladder, blood vessels, general deep hypothermia.

Стаття надійшла 4.04.2011 р.

УДК 611-018.41:616.71 – 001 – 003.9

А.Г. Попандопуло, В.В. Буше

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНЕННЯ КЛЕТОЧНИХ ІСТОЧНИКІВ ОСТЕОРЕПАРАЦІЇ ПРИ МЕХАНІЧЕСЬКІЙ ТРАВМІ ТРУБЧАТИХ КОСТЕЙ

ГУ «Інститут неотложної і восстановительної хірургії НАМН України» (г. Донецьк)

Робота выполнена в рамках научно-исследовательской работы лаборатории клеточного и тканевого культивирования «Исследовать некоторые механизмы остеорепаративных процессов при замедленной консолидации переломов и дефектах костей конечностей при использовании клеточно-тканевых технологий» (№ гос. регистрации 0107U000282).

Вступление. Основными единицами репаративной регенерации костной ткани являются малодифференцированные клетки-предшественники у которых функция пролиферации ещё не блокирована: мезенхимальные стволовые клетки стромы костного мозга (МСК КМ), остеогенные клетки периоста, клеточные элементы остеонов и эндоста и др. [1]. Поэтому понимание процессов остеорепарации в целом не возможно без изучения состояния костных клеток после травматического повреждения.

При действии травмирующей силы происходит разрушение клеточных источников остеорепарации (ОР) на определенном расстоянии от места приложения силы, а сохранившиеся клетки претерпевают морфологические изменения, что приводит к нарушению их нормального функционирования. Однако, исследований, посвященных детальному изучению взаимосвязи энергетики травмы с состоянием клеточных источников репарации после травмы, найти не удалось.

Поэтому, **целью данной работы** явилось изучение морфологических изменений основных источников остеорепарации полученных из зоны перелома с учетом энергетики травмирующего воздействия.

Объект и методы исследования. Объектом исследования явились клеточные культуры клеток периоста, эндоста и МСК КМ, полученные из зоны перелома костей лабораторных животных (крыс).

Травмы низкой интенсивности (1 группа) моделировали путем пересечения берцовой кости в средней трети при помощи кусачек Листона. Для моделирования высокоэнергетической травмы (2 группа) наносили дозированный удар в область средней трети голени при помощи специально сконструированного устройства (сила удара $2,55 \pm 0,04$ кг·м/с).

Из полученных костных фрагментов селективно получали популяции остеогенных клеток (периоста и эндоста) *in vitro* (по $n=15$ для каждого источника ОР). Изоляцию и культивирование МСК ($n=15$) крыс производили по общепринятой методике [2].

В процессе культивирования оценивали морфологическое состояние пролиферирующих клеток с помощью инвертированного микроскопа Leica DMIL (Германия) методом фазово-контрастной микроскопии (ФКМ). На всех стадиях эксперимента производили фотодокументирование полученных результатов.

Результаты исследований и их обсуждение. При культивировании клеток надкостницы до формирования клеточного монослоя, морфологических отличий между клетками надкостницы у крыс контрольной и экспериментальных групп не отмечалось.

При формировании монослоя клетки надкостницы 1-й группы имели веретенообразную форму, плотно прилегали одна к другой, располагались параллельно (рис. 1 б). Отмечено некоторое увеличение объема периостальных клеток 1-й группы, которое, вероятно, связано с компенсаторно-приспособительными процессами, происходящими в результате экстремального воздействия на костную ткань, а именно, с усилием синтетических процессов в клетках. Клетки надкостницы 2-й группы имели звездчатую (отростчатую) форму с явно выраженным отростками цитоплазмы и образовывали субконфлюэнт «сетчатой» структуры (рис. 1 в).

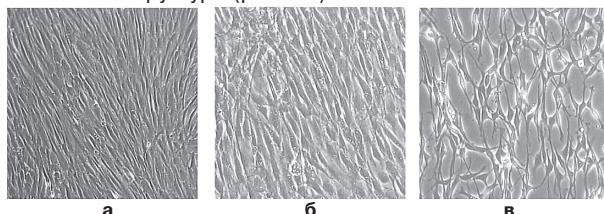


Рис. 1. Морфология клеток надкостницы, формирующих монослої (ФКМ, ув. 100):

а – контрольная группа, б – первая группа, в – вторая группа.

В процессе культивирования клетки эндоста 1-й группы имели округлую форму, характерную для остеобластных клеток (рис. 2 а, б). Пролиферирующие клетки эндоста 2-й группы имели фибробластоподобную форму, характерную для менее коммитированных камбимальных, активно пролиферирующих клеток костного дифференцировки (рис. 2 в). Последнее может быть объяснено дедифференцировкой клеток эндоста, которая происходит в результате экстремального воздействия на костную.

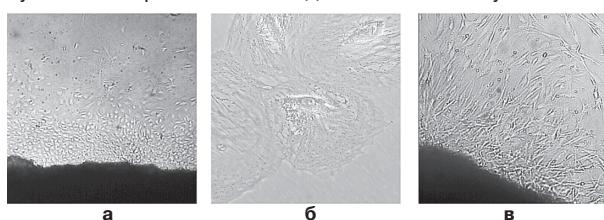


Рис. 2. Морфология первичних культур эндоста:

а – первая группа (ФКМ, ув. 40);
б – первая группа (ФКМ, ув. 200); в – вторая группа (ФКМ, ув. 40).

При дальнейшем культивировании эндостальные клетки 1-й группы к концу третьей недели формировали упорядоченный монослои, сформированный клетками округлой формы (**рис. 3 а**). Клеточные линии эндоста 2-й группы к концу третьей недели формировали монослои хаотичной структуры, образованный клетками разной формы – от веретенообразных до крупных округлых клеток и клеток неправильной формы с отростками (**рис. 3 б**).

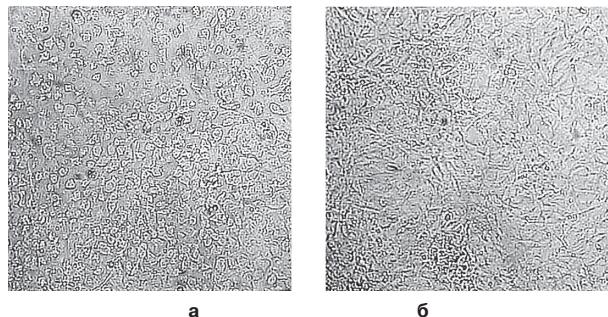


Рис. 3. Морфология клеток эндоста, формирующих монослои (ФКМ, ув. 40):
а – первая группа; б – вторая группа.

Клетки в первичных культурах МСК КМ были схожи морфологически. Однако отмечено, что примерно половина МСК 1-й группы были прикреплены к подложке, но не пролиферировали, о чем свидетельствует наличие округлых (не распластанных) клеток. Отмечено достоверное уменьшение количества МСК 2-й группы по сравнению с 1-й и контрольной группой.

Монослои МСК КМ контрольной группы (**рис. 4 а**) представлен, в основном, округлыми клетками небольшого размера. К 14-м суткам культивирования МСК КМ 1-й группы формировали плотный монослои с клетками округлой формы (**рис. 4 б**). МСК КМ 2-й группы к этому времени формировали субконфлюэнт, который по своей

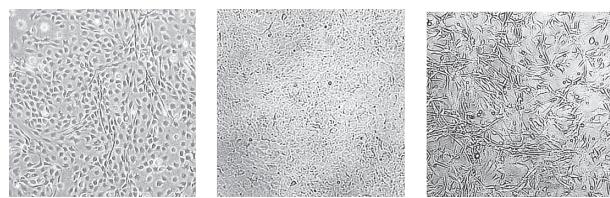


Рис. 4. Морфология клеток эндоста, формирующих монослои (ФКМ, ув. 40):
а – контрольная группа, б – первая группа, в – вторая группа.

структуре напоминал субконфлюэнт, образованный клетками периоста этой же группы животных (**рис. 1 в**).

Выводы. Таким образом, при травмах низкой интенсивности значительных морфологических изменений периостальных, эндостальных и костномозговых клеточных источников остеопарации не происходит. Они сохраняют характерную для данного клеточного типа морфологию первичных культур и способность формировать монослои.

При травмах высокой интенсивности клетки периоста, эндоста и МСК КМ претерпевают определенные морфологические изменения. Во-первых, изменяется морфология клеток первичных культур. Во-вторых, при травмах высокой интенсивности периостальные, эндостальные клетки и МСК КМ теряют способность формировать монослои. Вместо монослоев, образованных упорядоченными, имеющими одинаковую форму клетками, происходит формирование субконфлюентных культур, образованных морфологически гетерогенными клетками, которые имеют нехарактерную для клеток периоста, эндоста и МСК форму.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейшем планируется провести исследования по выявлению механизмов, приводящих к морфологическим изменениям клеточных источников остеопарации после травмирующего воздействия.

Список литературы

- Зубов Д.А. Цитокиновая регуляция reparативной регенерации костной ткани культивированными мезенхимальными стволовыми клетками / Д.А. Зубов, В.М. Оксимец – Травма. – 2008. – Т. 9, № 2 – С. 145 – 153.
- Терапия ишемического инсульта головного мозга у крыс с помощью мезенхимальных стволовых клеток / Н.Н. Зинькова, Е.Г. Гилерович, И.Б. Соколова [и др.] // Цитология – 2007 – Т. 49, № 7 – С. 566 – 575.

УДК 611-018.41:616.71 – 001 – 003.9

МОРФОЛОГІЧЕСКІ ІЗМЕНЕННЯ КЛЕТОЧНИХ ІСТОЧНИКІВ ОСТЕОРЕПАРАЦІЇ ПРИ МЕХАНИЧЕСЬКІЙ ТРАВМІ ТРУБЧАТИХ КОСТЕЙ

Попандопуло А.Г., Буша В.В.

Резюме. Проведено исследование *in vitro* морфологического состояния клеточных линий основных источников остеопарации из зоны повреждения костной ткани экспериментальных животных (крыс) с моделированной травмой различной интенсивности. Установлена зависимость между морфологией клеток и интенсивностью травмирующего агента.

Ключевые слова: травма, морфологические изменения, периост, эндост, мезенхимальные стволовые клетки.

УДК 611-018.41:616.71 – 001 – 003.9

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КЛІТИННИХ ДЖЕРЕЛ ОСТЕОРЕПАРАЦІЇ ПРИ МЕХАНІЧНІЙ ТРАВМІ ТРУБЧАСТИХ КІСТОК

Попандопуло А.Г., Буша В.В.

Резюме. Проведено дослідження *in vitro* морфологічного стану клітинних ліній основних джерел остеопарациї, що отримані із зони пошкодження кісткової тканини експериментальних тварин (шурів) з моделюваною травмою низької інтенсивності. Встановлена залежність між морфологією клітин та інтенсивністю агента, що травмує.

Ключові слова: травма, морфологічні зміни, періост, ендост, мезінхімальні стовбурові клітини.

UDC 611-018.41:616.71 – 001 – 003.9

MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE OSTEOREPARATION CELLS SOURCES BY THE TUBULAR BONE MECHANICAL INJURY

Popandopulo A.G., Bushe V.V.

Summary. The aim of research was to study morphological changes of the main osteoreparation cells types which were taken out of the test animal (rats) bone fracture with simulated trauma of different intensity. The dependence between cells morphology and traumatic agent energy was established.

Key words: trauma, morphological changes perioseum, endostium, mesenchymal stem cells.

Стаття надійшла 17.03.2011 р.