



ISSN 2071-875-6



9 772071 875009

**УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ
ЕКСТРЕМАЛЬНОЇ
МЕДИЦИНИ**

імені Г.О. МОЖАЄВА

3
2013

УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ ЕКСТРЕМАЛЬНОЇ МЕДИЦИНИ

імені Г.О.МОЖАЄВА



Геннадій Олександрович МОЖАЄВ
1935 — 1997

Том 14

№ 3

2013

Журнал нагороджено Почесною відзнакою Міністерства України з питань надзвичайних ситуацій та Почесною грамотою Міністерства вугільної промисловості України

Журнал заснований у вересні 2000 року Луганським державним медичним університетом та видається в співдружності з Українською асоціацією анестезіологів

Виходить 4 рази на рік

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР

В.К.ІВЧЕНКО (Луганськ)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

Б.О.БЕЗКАРАВАЙНИЙ (Луганськ), Ф.С.ГЛУМЧЕР (Київ), О.М.КЛІГУНЕНКО (Дніпропетровськ), В.Г.КОВЕШНІКОВ (Луганськ), Ю.М.КОЛЧІН (Луганськ), В.М.КОМАРЕВЦЕВ (Луганськ), С.С.ЛУБ'ЯНА (Луганськ), В.І.ЛУЗІН (Луганськ), І.Р.МАЛИШ (Київ) — заступник головного редактора, П.М.МАЛИШ (Луганськ), Ю.І.НАЛАПКО (Луганськ) — відповідальний секретар, Л.В.НОВИЦЬКА-УСЕНКО (Дніпропетровськ), Г.І.ПОСТЕРНАК (Луганськ), Г.Г.РОЩІН (Київ), О.М.СПІЦІН (Луганськ), В.В.СУСЛОВ (Київ), В.І.ЧЕРНІЙ (Донецьк), І.П.ШЛАПАК (Київ)

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

О.ГЛУЗ (Айзенберг, Німеччина)
В.М.ЖЕНІЛО (Ростов-на-Дону)
Є.П.КУРАПОВ (Донецьк)
М.ЛАНГЕ (Айзенберг, Німеччина)
Е.В.НЕДАШКОВСЬКИЙ (Архангельськ)
Р.І.НОВІКОВА (Донецьк)

В.Г.РАДІОНОВ (Луганськ)
О.Й.САЛТАНОВ (Москва)
З.М.ТРЕТЬЯКЕВИЧ (Луганськ)
В.П.ШАНО (Донецьк)
Г.А.ШИФРІН (Запоріжжя)

ЗМІСТ

CONTENTS

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- М.Ю.Перфільєва, О.О.Вовк, Т.О.Журба.** Зміна функціональної активності лімфоцитів людини під впливом ліпополісахаридів *Escherichia coli*
- В.С.Черно.** Індивідуальна морфометрична мінливість нижньої стрілової та прямої пазухи твердої оболони головного мозку у дорослих людей
- В.Н.Куница, Н.П.Барсуков, В.С.Пикалюк, Н.А.Новосельская.** Морфологическое обоснование необходимости восстановления целостности стволов блуждающего нерва
- Ю.В.Малеєв, А.В.Черных.** Обоснование оперативных вмешательств в передней области шеи на основе новых топографоанатомических данных
- Є.В.Гораш, А.Ю.Савчук.** Сучасні технології в торакальній хірургії
- М.С.Гнатюк, Л.В.Татарчук, О.Б.Ясіновський.** Особливості ремоделювання камер серця з різними типами кровопостачання за умов інтоксикації алюмінію хлоридом
- Л.А.Кутузова, В.С.Пикалюк, Н.Н.Каладзе, О.Я.Ярлова, В.Н.Куница.** Особенности морфологической структуры миокарда у экспериментальных животных с моделированным адьювантным артритом
- В.М.Шимон, А.А.Шерегій, В.В.Литвак.** Досвід трансплантації культивованих клітин кісткового мозку в модельований дефект стегнової кістки щурів
- Д.О.Порох, В.Ю.Стрельцова.** Педагогічне забезпечення процесу акультурації студентів-іноземців до умов нового культурного середовища
- О.Л.Кошельник, О.Г.Попов, В.В.Десятський.** Вплив даларгіну на активність ферментів підшлункової залози в крові щурів з L-аргінін-індукованим гострим експериментальним панкреатитом
- О.Г.Костюк.** Морфологічні зміни тканин підшлункової залози та вмісту в ній жовчних кислот в умовах дуоденостазу
- О.П.Бабкіна, Г.Е.Миловидова, І.І.Налча, Л.А.Шевченко.** Морфология uszkodжень органів черевної порожнини при механічній травмі
- Н.Є.Ковальчук, Ю.І.Попович, М.М.Багрій, В.М.Перцович.** Експериментальне моделювання гострої тимчасової странгуляційної тонкокишкової непрохідності у білих щурів
- Т.П.Сатаєва.** Влияние 40% этанола на состояние компенсаторной гипертрофии единственной почки в эксперименте

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- 6 **M.Ju.Perfilyeva, A.O.Vovk, T.A.Zhurba.** Change of the functional activity of lymphocytes of the human under the influence of lipopolysaccharides of *Escherichia coli*
- 9 **V.S.Cherno.** Individual morphometric variability of the lower sagittal sinus and direct the hard shell of the brain in adults
- 15 **V.N.Kunitsa, N.P.Barsukov, V.S.Pikalyuk, N.A.Novoselskaya.** Morphological ground of necessity to suture together vagal trunks shalt, trunk
- 20 **Yu.V.Maleev, A.V.Chernykh.** Substantiation surgical interventions in the front of the neck on the basis of new topographic anatomical data
- 25 **Ye.V.Gorash, A.Yu.Savchuk.** Modern methods of the chest surgery
- 30 **M.S.Hnatjuk, L.V.Tatarchuk, O.B.Jasinovsky.** Peculiarities of remodeling chambers of the heart with different type's blood supply in lesions under aluminium chloride
- 34 **L.A.Kutuzova, V.S.Pikalyuk, N.N.Kaladze, O.Ya.Yarovaya, V.N.Kunitsa.** Features of morphological structures infarction in experimental animals with the simulated adjuvant arthritis
- 38 **V.M.Simon, A.A.Shereghy, V.V.Litvak.** Experience by transplantation of cultivated marrow cells into the prototyped defect
- 42 **D.A.Porokh, V.Yu.Streltsova.** Educational support in the process of acculturation of students-foreigners
- 45 **E.L.Koshelnik, A.G.Popov, V.V.Desyatsky.** Effect of dalargin on pancreatic enzymes activity in blood of rats with L-arginine-induced acute experimental pancreatitis. Work is dedicated to the acute experimental pancreatitis and prophylactic efficacy increasi
- 50 **O.G.Kostyuk.** Morphological changes in pancreastis sues and the content the rein of bile acids in duodenostasis
- 53 **E.P.Babkina, G.E.Mylovydova, I.I.Nalcha, L.A.Shevchenko.** Morphology of damages of abdominal cavity due to mechanical trauma
- 57 **N.E.Kovalchuk, Y.L.Popovych, M.M.Bagriy, V.M.Percovych.** Experymental modeling of the acute temporal strangulation small bowel obstruction of rats
- 62 **T.P.Sataieva.** 40% ethanol influence on the single kidney compensatory hypertrophy state in experiment

Досвід трансплантації культивованих клітин кісткового мозку в модельований дефект стегнової кістки щурів

В.М.Шимон, А.А.Шерегій, В.В.Литвак

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», медичний факультет,
кафедра загальної хірургії, травматології та ортопедії, оперативної хірургії та судової медицини
Ужгород, Україна

У роботі представлені переконливі дані про доцільність та високу ефективність застосування трансплантації культивованих стромальних клітин кісткового мозку в зону змодельованого дефекту дистального епіметафізу стегнової кістки щурів, що зайшло підтвердження результатами експерименту, проведеного на білих щурах у порівнянні з контрольною групою тварин.

Ключові слова: кістка, трансплантація.

Вступ

Однією із найбільш актуальних питань в галузі відновного лікування опорно-рухового апарату є проблема реактивності і регенерації кісткової тканини, що спонукає до розробки шляхів впливу на процеси загоєння кісткової рани.

Репаративна регенерація являє собою відновлення клітин, тканин або органа після травми, або різних патологічних процесів. С.С.Ткаченко [10] під репаративною регенерацією розуміє «складний процес, який викликаний руйнуванням кісткових структур, кількісно перевершуючим допустимі межі фізіологічної регенерації», який «направлений на відновлення анатомічної цілісності і забезпечує функції кістки». У цьому напрямі досягнуті певні успіхи, однак ряд питань, пов'язаних з так званою «остеогенною недостатністю», залишаються висвітленими в недостатній мірі [5, 6, 8].

Однією з основних задач є пошук та забезпечення найбільш оптимальних умов для протікання репаративних процесів при порушенні цілісності кісткової тканини [4]. Експериментальні дослідження по даній проблемі ведуться в різних напрямках, серед них такі, як розробка біологічно активних речовин (факторів росту), саме вони являються стимуляторами остеогенезу, серед яких основна роль у цих процесах належить кістковим морфогенетичним білкам [7]. На сьогоднішній день активно розвивається новий напрям регенераторної медицини — клітинна та тканинна інженерія [11, 12]. Термін «клітинна терапія» належить доктору медицини і теології Паулю Ніхансу, який визначав її

як «форму вибіркового впливу, метою якого є розвиток недорозвинутих органів або органів, що не здатні до самостійної регенерації». Клітинні технології включають в себе розробку методів отримання клітинних культур, оцінку їхнього впливу на репаративний остеогенез, а також технології їх застосування в практичній медицині.

У літературі найбільш широко представлені розробки з отримання та культивування аутологічних стромальних клітин кісткового мозку [13]. Дослідники пов'язують можливість застосування стромальних клітин кісткового мозку при їхній трансплантації на біосумісних носіях. [3, 4, 14, 15]. Клітини на матрицях використовують для відновлення проблемних ушкоджень кістки — багатоуламкові переломи, поєднані з обширними дефектами кістки, дефекти кістки після остеомієліту, резекції новоутворів тощо.

Мета дослідження було вивчити регенерацію кістки при трансплантації культивованих стромальних клітин кісткового мозку в змодельований дефект стегнової кістки білих лабораторних щурів та обґрунтувати доцільність їх застосування.

Матеріали та методи дослідження

Клітини кісткового мозку під час експерименту отримували в стерильних умовах із каналу стегнової кістки щурів-донорів шляхом вимивання розчином Хенкса. Клітини осаджали шляхом центрифугування при 1000 об./хв. протягом 10 хв., відмивали в розчині Хенкса, ре-

суспензували в середовищі DMEM (модифіковане Дюльбеко середовище Ігла) з додаванням 20% фетальної телячої сироватки, 2 мМ L-глутаміну і 50 мкг/мл гентаміцину. Кількість виділених клітин визначали шляхом підрахунку в камері Горяєва. Клітини сіяли у флакони для культивування в концентрації $2 \cdot 10^6$ на cm^2 дна флакона. Через добу культуральне середовище з клітинами, що не прикріпилися, зливали, клітини промивали розчином Хенкса (два-три рази) та добавляли свіже середовище для культивування (DMEM з L-глутаміном, 10% телячої сироватки, 100 IU/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину). Клітини культивували в CO_2 -інкубаторі при температурі $+37^\circ\text{C}$, в середовищі з 5% CO_2 та 95% вологості. Середовище міняли кожні дві доби. Клітини строми кісткового мозку наділені низькою проліферативною активністю та утворюють колонії фібробластоподібних клітин на дні флакона через 12-14 діб. Для створення умов остеогенного диференціювання в культуральне середовище додавали 0,285 мл аскорбінової кислоти, 10 мл бета-гліцерофосфату, 10^{-7} М дексаметазону.

Для трансплантації клітини знімали на 14 добу за допомогою 0,25% розчину трипсину, який інактивували культуральним середовищем із сироваткою та осаджували клітини центрифугуванням. Для трансплантації клітини ресуспензували в 0,95% розчині хлориду натрію з 5% сироваткою білого щура.

Утримання і догляд за тваринами та всі маніпуляції проводились у відповідності з правилами гуманного відношення до тварин та положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), а також Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей (Стасбург, 1986). Щурам в умовах асептики при використанні внутрішньом'язового наркозу (аміназин — 40 мг/кг та кетамін — 50 мг/кг) у метадіафізарній ділянці дистального відділу стегнової кістки (не вскриваючи капсулу суглоба) відтворювали наскрізний дефект, використовуючи стоматологічний бор діаметром 2 мм. Дефект промивали 0,95% розчином хлориду натрію. Рану зашивали. На третю добу підготовлену клітинну суспензію в кількості $6 \cdot 10^6/0,1$ мл вводили (черезшкірно) в ділянку дефекту за допомогою шприца. Третя доба протікання процесу регенерації кістки у щурів відповідає стадії проліферації та диференціації клітин. Контрольним тваринам вводили середовище для культивування без клітин.

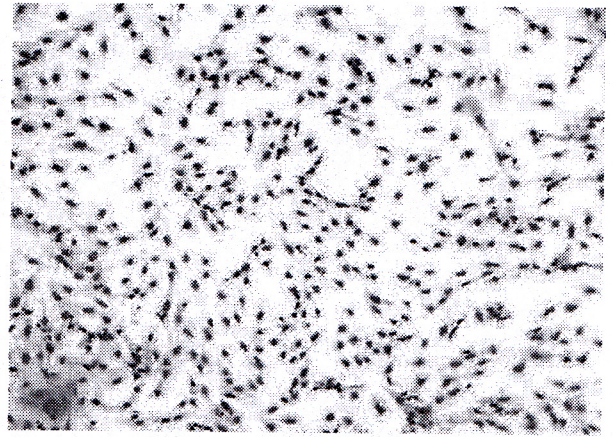


Рис. 1. Культура стромальних клітин кісткового мозку щурів досліджуваної групи. Забарвлення азурII-еозином. Зб. $\times 100$.

Матеріал дослідження забирали на 7 та 14 добу. Тварини виводились зі експерименту шляхом передозування ефіру.

Використовували цитологічні та гістологічні методи. Для контролю одне із скелець культивованих клітин було забарвлено азур-еозином. Фрагменти стегнової кістки щурів з травматичним ушкодженням були підготовлені для дослідження за стандартною методою [9].

Матеріал фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в спиртах висхідної концентрації і заливали в парафін. Із парафіну готували гістологічні зрізи товщиною 5-7 мкм, які забарвлювали гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за Ван-Гізоном та досліджували під мікроскопом MICROS. Морфометричні дослідження тканин регенерату проводили на 14 добу за методом Г.Г.Автандилова [1].

Результати дослідження та їх обговорення

Більшість культивованих клітин розміщувались на предметних скельцях невеликими скупченнями, мали фібробластоподібну видовжену форму з довгими відростками. Невеликих розмірів, округлі ядра клітин оточені вузьким обідком цитоплазми. Хроматин ядра був рихлим (рис. 1.). Життєздатність клітин (при забарвленні трипановим синім) складала 90%.

Після трансплантації культивованих клітин в зону дефекту стегнової кістки тварини на всіх термінах експерименту навантажували оперовану кінцівку і були активними.

Мікроскопічно на 7 добу регенерати в ділянці дефекту дослідних тварин відрізнялися від

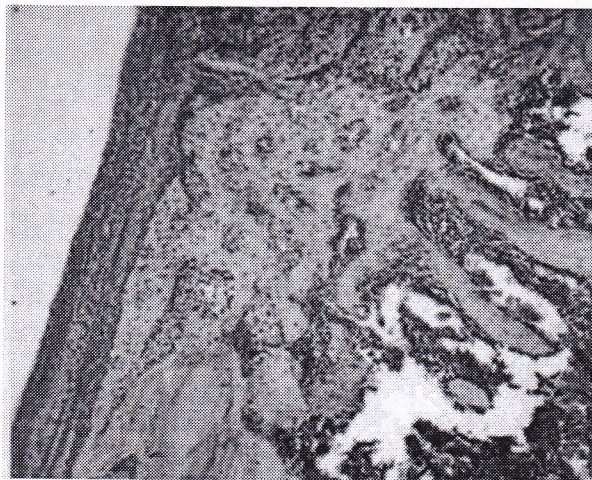


Рис. 2. Ділянка регенерації кістки в зоні дефекту тварин досліджуваної групи. Новоутворені кісткові трабекули. Сформований періост над регенератом. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. $\times 200$.



Рис. 3. Ділянка регенерації в зоні дефекту тварин контрольної групи.

контрольних. Так, в регенераті дослідних тварин переважали поля остеїду та незрілі кісткові трабекули. Лише невеликі площі займала фіброретикулярна тканина. У кісткових дефектах контрольних тварин обширні площі регенерату були представлені фіброретикулярною тканиною остеобластичного типу.

На 14 добу ділянка дефекту у дослідних тварин була заповнена дрібнопетлистою сіткою кісткових трабекул, між якими розміщувалась фіброретикулярна тканина. Новоутворені кісткові трабекули характеризувалися високою щільністю остеоцитів. Кістковий регенерат був щільно сполучений з материнською кісткою, в якій були присутні сліди посттравматичних порушень: безклітинні території з нерівномірно базофільними лініями склеювання (рис. 2). Над дефектом сформувався періост із вузького рівномірного фіброзного шару (рис. 3). При морфометричному дослідженні встановлено, що новоутворена кісткова тканина займала $62,71 \pm 3,16\%$ території дефекту, а площа фіброретикулярної тканини склала $26,51 \pm 1,83\%$.

У регенератах дефекту стегнової кістки тварин контрольної групи, на відміну від дослід-

них тварин, окрім новоутворених кісткових трабекул (територія $15,7 \pm 1,24\%$), присутні обширні поля ($73,98 \pm 4,12\%$ від площі дефекту) фіброретикулярної тканини з вираженою остеобластичною реакцією на межі з кістковими трабекулами (рис. 2). Зміни в материнській кістці були ідентичні описаним для тварин досліджуваної групи.

Масив фіброретикулярної тканини поруч з новоутвореними кістковими трабекулами. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. $\times 200$.

Висновки

1. Трансплантація культивованих стромальних клітин кісткового мозку в кістковий дефект стимулює репаративний остеогенез.

2. Застосування трансплантації культивованих стромальних клітин кісткового мозку може бути використане в практичній медицині при багатоуламкових переломах, наявності кісткових дефектів, де часто спостерігається недостатність репаративного остеогенезу.

3. Дана методика потребує подальшого вивчення та вдосконалення.

Література

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. — М.: Медицина, 1990. — 381 с.
2. Волков А.В. Синтетические биоматериалы на основе полимеров органических кислот в тканевой инженерии / А.В.Волков // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2005. — №2. — С. 43-45.
3. Волков А.В. Тканевая инженерия: новые перспективы развития медицины / А.В.Волков // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2005. — №1. — С. 57-63.
4. Дедух Н.В. Регенерація кістки: досягнення та перспективи / Н.В.Дедух, С.В.Малишкіна // Травма. — 2006. — Т. 7, №2. — С. 212-216.
5. Деев Р.В. Клеточные технологии в травматологии и ортопедии / Р.В.Деев, А.А.Исаев, А.Ю.Кочиш, Р.М.Тихолов // Травматология и ортопедия России. — 2007. — Вып. 46. — №4. — С. 18-30.

6. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации (сообщение 1) / Н.А.Корж, Н.В.Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2006 — №1. — С. 77-84.
7. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Методы тканевой терапии и генной инженерии (сообщение 6) / Н.А.Корж, Н.В.Дедух, Н.А.Ашукина // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2006. — №3. — С. 93-99.
8. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Системные факторы, влияющие на заживление перелома (сообщение 3) / Н.А.Корж, Н.В.Дедух, О.А.Никольченко // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2006. — №2. — С. 93-99.
9. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника / Д.С.Саркисов, Ю.Л.Перова. — М.: Медицина, 1996. — 542 с.
10. Ткаченко С.С. Статические электрические потенциалы кости и роль вектора поляризации при электростимуляции остеорепарации // Ортопедия, травматология и протезирование. — 1981. — №10. — С. 1-5.
11. Krebsbach P.H. Dental and Skeletal Stem Cells : Potential Cellular Therapeutics for Craniofacial Regeneration / P.H.Krebsbach, P.G.Robey // J. Dent. Edu. — 2002. — Vol. 66, №6. — P. 766-773.
12. Langer R. Tissue engineering / R.Langer, J.P.Vacanti // Science. — 1993. — Vol. 260. — №5110. — P. 920-926.
13. Mankani M.H. In vivo bone formation by Human marrow stromal cells: Reconstruction of the mouse calvarium and mandible / M.H.Mankani, S.A.Kuznetsov, R.M.Wolfe et al. // Stem cells. — Vol. 24, №9. — P. 2140-2149.
14. Ohgushi H. Osteogenic differentiation of cultured marrow stromal stem cells on the surface of bioactive glass ceramics / H.Ohgushi, Y.Dohi, T.Yoshikawa, S.Tamai et al. // J. Biomed. Mater. Res. — 1996. — Vol. 32, №30. — P. 341-348.
15. Vacanti J.P. Editorial: tissue engineering: a 20-year personal perspective / J.P.Vacanti // Tissue Eng. — 2007. — Vol. 13, №2. — P. 231-232.

В.М.Шимон, А.А.Шерегий, В.В.Литвак. Опыт трансплантации культивированных клеток костного мозга в моделированный дефект бедра крыс. Ужгород, Украина.

Ключевые слова: кость, трансплантация.

В работе представлены убедительные данные о целесообразности и высокой эффективности применения трансплантации культивированных стромальных клеток костного мозга в зону смоделированного дефекта дистального эпиметафиза бедренной кости крыс, а также подтверждение того результатами проведенного нами эксперимента на белых крысах в сравнении с контрольной группой.

V.M.Simon, A.A.Shereghy, V.V.Lityak. Experience by transplantation of cultivated marrow cells into the prototyped defect. Uzhgorod, Ukraine.

Key words: bone, transplantation.

In this work presented compelling evidence by the expediency and high effectivity of application the cultivated marrow stromal cells transplantation into the prototyped defect zone on metadiaphysis of the laboratory rats' thighbone. Histological studies, carried out on different stages of the experiment are indicate for efficiency given this method, considering reparative osteogenesis' processes in comparison with checking group of the rats.

Надійшла до редакції 23.05.2013 р.