

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 616.718.41

doi:10.18499/2225-7357-2025-14-3-68-76

1.5.22 – клеточная биология



Особенности фенотипов клеток суставного хряща головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра

Н. Ю. Пахомова^{1✉}, Е. Л. Строкова¹, А. И. Шевченко², В. В. Кожевников¹,
С. В. Машак³, С. В. Залавина³, Д. В. Жуков³, А. А. Корыткин¹

¹Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии
им. Я.Л. Цивьяна, Новосибирск, Россия

²Институт цитологии и генетики, Новосибирск, Россия

³Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

Аннотация. Врожденный вывих бедра является проявлением тяжелой степени дисплазии тазобедренного сустава, инвалидизирующей ортопедической патологией с невыясненными патогенетическими механизмами и этиологическими факторами. При врожденном вывихе бедра выявляются диспластические процессы в хрящевой ткани суставной поверхности головки бедренной кости. Изучение фенотипов клеток суставной хрящевой ткани головки бедренной кости позволит понять этиопатогенетические механизмы данной патологии. **Цель исследования** – изучить фенотипы клеток суставного хряща головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра. **Материал и методы.** Проведен иммуноцитохимический анализ культуры клеток суставного гиалинового хряща головки бедренной кости, полученных от 5 пациентов с врожденным вывихом бедра. Было выполнено 5 пассажей культивирования клеток. Статистическую обработку количественных данных выполняли при помощи программы Microsoft Excel. **Результаты.** При культивировании было получено два типа клеток разного фенотипа. На основании положительной иммуноцитохимической реакции с ключевым маркером хондрогенной дифференцировки (к коллагену II типа) первый тип клеток идентифицирован как хондроциты и хондробласты – клетки округлой и полигональной формы, образующие монослой. Второй тип – отростчатые биполярные и мультиполярные клетки, расположенные обособленно, которые проявляли положительную иммуноцитохимическую реакцию на ранние нейральные маркеры PAX6, SOX1, SOX2, Musashi1 и поздний нейральный маркер NF200. Эти клетки были определены как клетки нейрального происхождения. **Заключение.** Полученные данные позволяют оценить участие клеток нейральной природы в этиопатогенетических механизмах формирования врожденного вывиха бедра. Взаимосвязь процессов, происходящих в эмбриогенезе – изменение процесса миграции клеток нервного гребня, их эктопическая локализация и развитие дисплазии тазобедренного сустава (врожденного вывиха бедра) – требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: врожденный вывих бедра; суставной хрящ; хондроциты; коллаген II типа; нервный гребень; фенотип

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Пахомова Н.Ю., Строкова Е.Л., Шевченко А.И., Кожевников В.В., Машак С.В., Залавина С.В., Жуков Д.В., Корыткин А.А. Особенности фенотипов клеток суставного хряща головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра // Журнал анатомии и гистопатологии. 2025. Т.14, №3. С. 68–76. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2025-14-3-68-76>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

Phenotypic Features of Articular Cartilage Cells in the Femoral Head in Congenital Hip Dislocation

N. Yu. Pakhomova^{1✉}, E. L. Strokova¹, A. I. Shevchenko², V. V. Kozhevnikov¹,
S. V. Mashak³, S. V. Zalavina³, D. V. Zhukov³, A. A. Korytkin

¹Ya.L. Tsvyvan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics,
Novosibirsk, Russia

²Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia

³Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Abstract. Congenital hip dislocation is a manifestation of a severe degree of hip joint dysplasia, a disabling orthopedic pathology with unclear pathogenetic mechanisms and etiological factors. In congenital hip

© Пахомова Н.Ю., Строкова Е.Л., Шевченко А.И., Кожевников В.В., Машак С.В., Залавина С.В., Жуков Д.В., Корыткин А.А., 2025

dislocation, dysplastic processes are identified in the cartilage tissue of the articular surface of the femoral head. Studying the phenotypic characteristics of the articular cartilage cells in the femoral head will help to understand the etiopathogenetic mechanisms of this pathology. **The study aims** to characterize the cell phenotypes in the femoral head articular cartilage associated with congenital hip dislocation. **Material and methods.** An immunohistochemical analysis was performed on a culture of articular hyaline cartilage cells from the femoral head obtained from 5 patients with congenital hip dislocation. Five cell culture passages were carried out. Statistical processing of the quantitative data was performed using Microsoft Excel software. **Results.** During culturing, two cell types of different phenotypes were obtained. Based on a positive immunocytochemical reaction with a key marker of chondrogenic differentiation (anti-type II collagen), the first cell type was identified as chondrocytes and chondroblasts. These are round and polygonal cells that form a monolayer. The second type consisted of process-bearing bipolar and multipolar cells, located in isolation, which exhibited a positive immunocytochemical reaction for the early neural markers PAX6, SOX1, SOX2, Musashi1, and the late neural marker NF200. These cells were defined as being of neural origin. **Conclusion.** The obtained data will help to assess the involvement of neural-origin cells in the etiopathogenetic mechanisms of congenital hip dislocation development. The interrelationship of the processes occurring during embryogenesis, such as altered migration of neural crest cells, their ectopic localization, and the development of hip joint dysplasia (congenital hip dislocation) requires further investigation.

Keywords: hip dislocation, congenital; cartilage, articular; chondrocytes; collagen type II; neural crest; phenotype

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interests.

For citation: Pakhomova N.Yu., Strokova E.L., Shevchenko A.I., Kozhevnikov V.V., Mashak S.V., Zalavina S.V., Zhukov D.V., Korytkin A.A. Phenotypic features of articular cartilage cells in the femoral head in congenital hip dislocation. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2025. V. 14, №3. P. 68–76. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2025-14-3-68-76>

Введение

Дисплазия тазобедренного сустава – это дистрофический морфофункциональный процесс, приводящий к анатомическому несоответствию вертлужной впадины и головки бедренной кости, крайней степенью которого является врожденный вывих бедра [19]. Последние десятилетия активно изучается генетическая этиология развития дисплазии тазобедренного сустава. Результаты изучения наследственных и предрасполагающих факторов до настоящего времени не выявили основную причину развития изучаемой патологии [1, 2]. Развитие дисплазии тазобедренного сустава определено совокупностью нескольких наследственных факторов и факторов риска окружающей среды, что объясняет вариабельность течения заболевания в разных странах [7].

В настоящее время дисплазия тазобедренного сустава характеризуется как нарушение морфогенеза и соотношения структурных компонентов, которое приводит к ряду клинических проявлений – от дисплазии вертлужной впадины и подвывиха бедра до дислокации головки бедренной кости – вывиха бедра. По литературным данным, частота встречаемости дисплазии тазобедренного сустава составляет 25 – 50:1000, подвывиха – 10:1000, врожденного вывиха бедра – 1 – 5:1000 [9]. Патология сопровождается длительными хроническими болями и ограничением подвижности тазобедренного сустава, что значительно сказывается на качестве жизни пациента и его трудоспособности.

Процесс образования суставной щели между вертлужной впадиной и головкой бедренной кости начинается на 5–6-й неделе внутриутробного развития, а все основные компоненты тазобедренного сустава формируются к концу 10-й недели. При дисплазии

тазобедренного сустава образуются анатомические инверсии структурных компонентов тазобедренного сустава разной степени выраженности. Развивается деформация вертлужной впадины – происходит увеличение длины и уменьшение глубины при сохраненной физиологической ширине, что приводит к недостаточному покрытию головки бедренной кости [5]. Неполное покрытие головки бедренной кости, смещение центра ротации и уменьшение площади контакта между структурными компонентами тазобедренного сустава являются причиной непропорционального распределения нагрузки в суставе. Развивающиеся патологические процессы увеличивают биомеханическую нагрузку на суставной хрящ головки бедренной кости (растяжение, сжатие, деформация, сдвиг, изменение гидростатической нагрузки), которые значительно превосходят физиологическую устойчивость хрящевой ткани. При дисплазии тазобедренного сустава (врожденном вывихе бедра) патологическая биомеханика возможно служит одной из причин развития повреждений суставных тканей, включая суставной хрящ головки бедренной кости [12].

Представленные в литературе результаты сравнительных исследований структурно-функциональных характеристик суставного хряща головки бедренной кости в норме и при выраженной степени дисплазии тазобедренного сустава (врожденном вывихе бедра) выявили различия не только в компонентах межклеточного матрикса, но и в количестве и структуре хондроцитов [5]. Результаты гистологического анализа суставного хряща головки бедренной кости при данной патологии, характеризуются дистрофическими и дегенеративными изменениями поверхностной зоны, что проявляется в виде участков некроза, дегенерации матрикса, дезорганизации и уменьшении количества коллагеновых

фибрилл, единично расположенных хондробластах [4]. Определены изменения в строении и расположении клеток в глубокой зоне хряща, где выявляются участки бесклеточного матрикса, преобладание пустых лакун, общее снижение количества хондроцитов [14]. Иммуногистохимические исследования суставного хряща головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра выявили изменения количества агрегана, структуры коллагена II типа и протеогликанов в межклеточном матриксе [13].

Несмотря на всестороннее изучение патологических процессов при дисплазии тазобедренного сустава однозначного ответа о причине заболевания найти на сегодняшний день не удалось. Мы полагаем, что изучение фенотипических особенностей клеток суставного хряща головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра позволит понять причину развития данной патологии.

Цель исследования – изучить фенотипы клеток суставного хряща головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра.

Материал и методы исследования

Место и время проведения исследования. Клинический материал был получен в отделении детской ортопедии ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России в период с апреля 2022 г. по январь 2024 г. в рамках НИР № 2-13.

Характеристика объекта исследования. В ретроспективное исследование был включен клинический материал – образцы суставной хрящевой ткани головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра. Пациенты. Средний возраст пациентов на момент забора клинического материала (3 мальчика, 2 девочки) составил 3 года 10 мес \pm 1 год 8 мес. Критерием включения пациентов в исследование был установленный основной диагноз – врожденный вывих бедра одно- и двусторонний (по МКБ-10: Q66.0 и Q65.1 – врожденный вывих бедра двусторонний). Критерием исключения являлось наличие в анамнезе родовых травм, неврологической патологии, инфекционных заболеваний, аутоиммунных патологий, наследственных метаболических и хромосомных болезней.

Способ формирования выборки основывался на критериях невероятностной выборки, тип – выборка типичных случаев (основной диагноз по МКБ-10).

Дизайн исследования. Гипотезопорождающее пилотное исследование.

Методы. Метод культуры клеток. Суставной гиалиновый хрящ головки бедренной кости нарезали до размеров 1–2 мм², отмывали в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS, МикроГен, Россия) и помещали в раствор 1,5% коллагеназы (C2-28-100, Sigma-Aldrich, USA). Инкубирование проводили в

течение 18–20 ч при температуре 37°C в условиях CO₂-инкубатора (МСО-170AICUVL-PA, USA) в пластиковых пробирках. Взвесь клеток пропускали через нейлоновый фильтр, осаждали клетки центрифугированием в течение 10 мин при 2000 об./мин. Количество клеток измеряли в автоматическом счетчике клеток Countess 3 FL (Thermo Fisher Scientific, USA) [3].

Культивирование клеток и иммуноцитохимическое исследование проводились по ранее опубликованным методикам [3].

Прижизненная съемка. Прижизненную съемку клеток проводили в поляризационном микроскопе (AmScope 50X-1250X EPI Infinity + Digital Camera 10 MP, USA).

Иммунофлуоресцентное окрашивание. Для окраски ядер клеток использовали 4',6-диамидино-2-фенилиндол (DAPI) (H-1200-10, Vector Laboratories, USA). Первичные антитела: Musashi-1 (AB5977, Sigma-Aldrich, USA; 1:200), Pax 6 (sc-81649, Santa Cruz Biotechnology, USA; 1:50), SOX1 (07-1673, Sigma-Aldrich, USA; 1:200), NF 200 (N0142, Sigma-Aldrich, USA; 1:1000), SOX2 (SP76, Sigma-Aldrich, USA; 1:400), коллаген II типа (PA5-99159, Thermo Fisher Scientific, USA; 1:200). Вторичные антитела (Thermo Fisher Scientific, USA; 1:400) – Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit IgG (H+L) cross-adsorbed (A11008), Alexa Fluor 568 goat anti-mouse IgG (H+L) highly cross-adsorbed (A11031), Alexa Fluor 488 goat anti-mouse IgG1 cross-adsorbed (A21121). Окрашенные образцы анализировали с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа Eclipse Ti-E («Nikon», Japan) с программным обеспечением NIS-Elements.

Количественный анализ полученных результатов проводили при помощи программы для анализа и обработки изображений ImageJ с открытым исходным кодом.

Статистический анализ. Статистическую обработку количественных данных выполняли при помощи программы Microsoft Excel (Microsoft, USA). Тип распределения данных устанавливали при помощи параметрического теста Шапиро–Уилка. Определено нормальное распределение данных. Показатели представлены в виде значений среднего арифметического и стандартного отклонения. Для оценки межгрупповых значений средних величин применяли t-критерий Стьюдента. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом при ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России. Выписка 023/21 из протокола № 009/21 от 06.12.2021.

Результаты и их обсуждение

На 5–7-й день культивирования клетки, полученные из суставного хряща головки

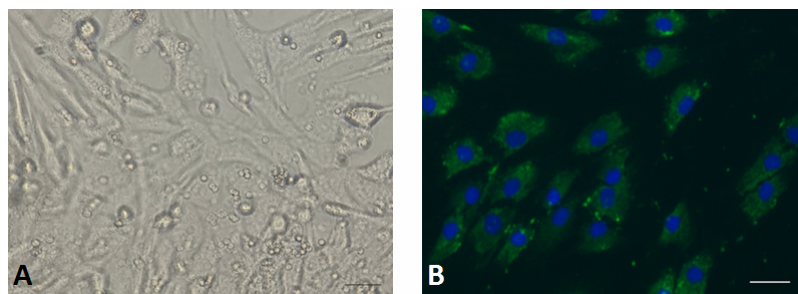


Рис. 1. Культура клеток, выделенных из суставного хряща головки бедренной кости, 2-й пассаж культивирования. А – фазовый контраст, прижизненная съемка, $\times 200$; В – иммуноцитохимическое выявление коллагена II типа (зеленый цвет), ядра клеток визуализированы DAPI (синий цвет), $\times 400$. Масштабный отрезок – 10 мкм.

Fig.1. Cell culture isolated from the articular cartilage of the femoral head, 2nd cultivation passage. A – phase contrast, live imaging, $\times 200$; B – immunocytochemical detection of type II collagen (green), cell nuclei are visualized with DAPI (blue), $\times 400$. Scale bar – 10 μm .

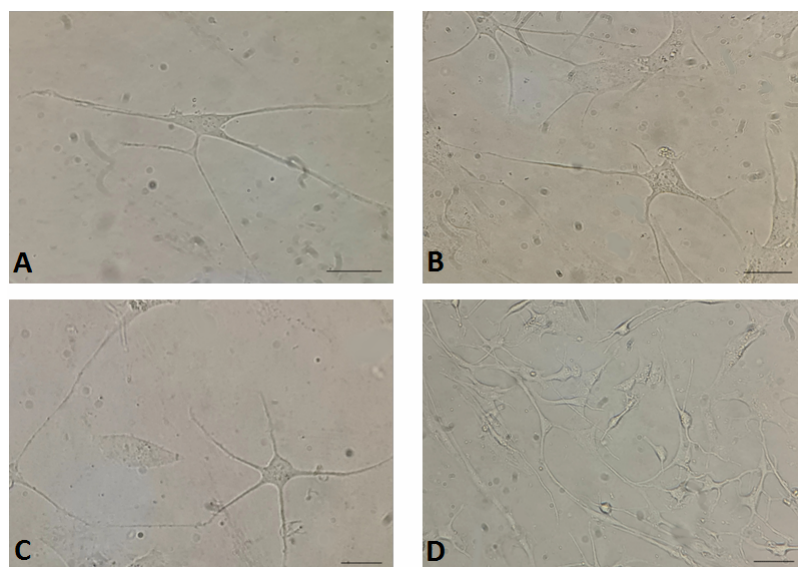


Рис. 2. Культура клеток, выделенных из суставного хряща головки бедренной кости. А – 2-й пассаж культивирования, $\times 400$; В, С – 3-й пассаж культивирования, $\times 400$; D – 5-й пассаж культивирования, $\times 200$. Фазовый контраст, прижизненная съемка. Масштабный отрезок – 10 мкм.

Fig. 2. Culture of cells isolated from the femoral head articular cartilage. A – 2nd passage of cultivation, $\times 400$; B, C – 3rd passage of cultivation, $\times 400$; D – 5th passage of cultivation, $\times 200$. Phase contrast, live imaging. Scale bar – 10 μm .

бедренной кости при врожденном вывихе бедра, формировали монослой (рис. 1 А). Прижизненная съемка определила, что монослой в основном представлен клетками полигональной и овальной формы, которые располагались компактно, образуя изофенотипные группы. Иммуноцитохимическое окрашивание выявило положительную реакцию клеток к коллагену II типа – одному из ключевых маркеров хрящевой ткани [15], что позволило данный тип клеток идентифицировать как хондробласты и хондроциты. Экспрессия коллагена II типа в цитоплазме была равномерной. Центально или эксцентрично вблизи с плазмалеммой клеток выявлялись крупные ядра с одним или двумя ядрышками (рис. 1 В).

Кроме того, в прижизненной культуре клеток, полученной из гиалинового хряща головки бедренной кости, среди фенотипически определяемых клеток хондроцитарного ряда, выявлялись крупные клетки треугольной формы с крупным, центально располо-

женным ядром и 1–2 ядрышками. Они обладали короткими ветвящимися и 3 длинными отростками (рис. 2 А). Клетки мультиполярной и биполярной формы формировали между собой контакты (рис. 2 В, С). При этом клетки изучаемого фенотипа располагались обособленно от хондроцитов и хондробластов. Количество клеток звездчатого типа возрастало с увеличением числа пассажей – на 1-м пассаже они выявлялись в единичном количестве, со 2-го по 4-й пассаж их число заметно увеличивалось. На 5-м пассаже отростчатые клетки мультиполярной формы образовывали множественные межклеточные контакты как на уровне тел, так и между отростками (рис. 2 D).

На основе морфологии выявленных клеток и формирования ими многочисленных межклеточных контактов возникло предположение о том, что эти клетки имеют нейрональное происхождение. Для проверки данного предположения проводили иммуноцито-

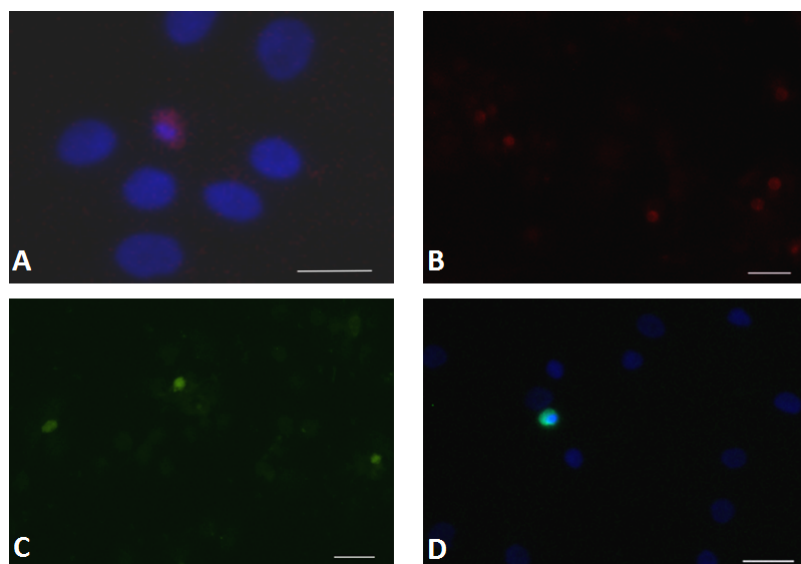


Рис. 3. Культура клеток, выделенных из суставного хряща головки бедренной кости, 2-й пассаж культивирования, ядра клеток визуализированы DAPI (синий). Иммуноцитохимическое выявление PAX6 (A – $\times 600$, B – $\times 200$; красный цвет); SOX1 (C – $\times 200$, зеленый цвет); SOX2 (D – $\times 400$, зеленый цвет). Масштабный отрезок – 10 мкм.
Fig. 3. Culture of cells isolated from the femoral head articular cartilage, 2nd passage. Cell nuclei are stained with DAPI (blue). Immunocytochemical detection of PAX6 (A – $\times 600$, B – $\times 200$; red); SOX1 (C – $\times 200$, green); SOX2 (D – $\times 400$, green). Scale bar – 10 μm .

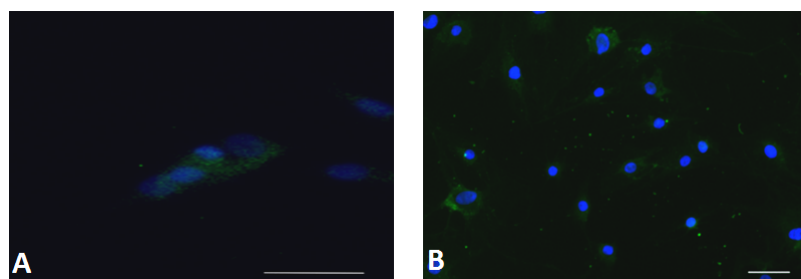


Рис. 4. Иммуноцитохимическое выявление Musashi1 (зеленый цвет) в культуре клеток, выделенных из суставного хряща головки бедренной кости, 3-й пассаж культивирования; ядра клеток визуализированы DAPI (синий). A – $\times 600$, зеленый цвет; B – $\times 400$, зеленый цвет. Масштабный отрезок – 10 мкм.
Fig. 4. Immunocytochemical detection of Musashi1 (green) in a cell culture isolated from the femoral head articular cartilage, 3rd passage; cell nuclei are stained with DAPI (blue). A – $\times 600$, green; B – $\times 400$, green. Scale bar – 10 μm .

химические выявление нейральных маркеров с антителами к PAX6, SOX1 и SOX2, Musashi1 и к нейрофилламенту – NF 200.

PAX6 – транскрипционный фактор, ранний нейральный маркер, кодируемый геном PAX6 (парный белок PAX 6), служит регулятором координации и формирования паттернов, необходимых для успешного протекания дифференцировки и пролиферации стволовых клеток. Как фактор транскрипции, PAX6 действует на молекулярном уровне в передаче сигналов и формировании центральной нервной системы. Он является членом семейства группы эмбриональных генов PAX, участвующих в координации процессов отслоения и миграции клеток нервного гребня. Экспрессируется в клетках нейрального генеза не только в эмбриогенезе, но и в постнатальном периоде [17]. Мы показали, что в клеточных культурах, полученных от пациентов с врожденным вывихом бедра, экспрессия PAX6 обнаруживалась в ядрах клеток нейрального фенотипа (рис. 3 А, В).

Кроме того, иммуноцитохимическое окрашивание выявило положительную реакцию клеток в исследуемых культурах на ранние маркеры нейральных клеток – транскрипционные факторы SOX1 и SOX2, которые участ-

вует в нейрогенезе. Экспрессия гена SOX1 является индуктором процессов, происходящих в нейроэктодерме, в частности, в отслаивании клеток нервного гребня [16]. SOX2 – является фактором транскрипции, необходимым для поддержания плюрипотентности стволовых клеток, участвует в регуляции эмбрионального развития, играет решающую роль в поддержании стволовых клеток в центральной нервной системе [8]. Экспрессия SOX1 (рис. 3 С) и SOX2 (рис. 3 D) детектировалась в исследуемых культурах в ядрах клеток, определяемых как клетки нейрального фенотипа.

Иммуноцитохимическое исследование отростчатых клеток 3-го пассажа культивирования выявило положительную реакцию к раннему нейральному маркеру Musashi1. Musashi1 – нейронный РНК-связывающий белок, выполняющий важную роль в регуляции клеточной дифференцировки клеток-предшественников, участвуя в пролиферации и поддержании стволовых клеток в центральной нервной системе, кодируется геном MSI1 [10]. Экспрессия антител к Musashi1 визуализировалась в телах исследуемых клеток (рис. 4 А, В).

NF 200 – поздний нейральный маркер, высокомолекулярный пептид нейрофиламента, экспрессируется только в нейронах;

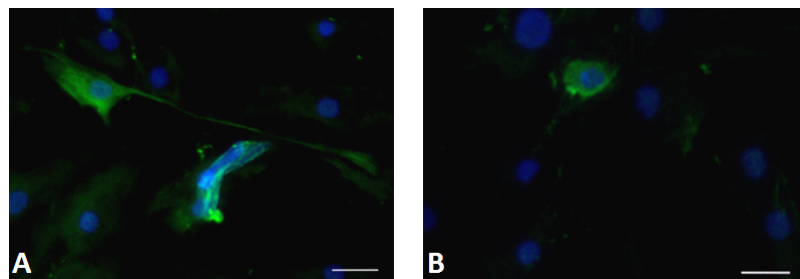


Рис. 5. Иммунофлуоресцентное окрашивание культуры клеток, выделенных из суставного хряща головки бедренной кости, 5-й пассаж культивирования, реакция с антителами к NF 200 (зеленый цвет); ядра клеток визуализированы DAPI (синий). А, В – $\times 600$, зеленый цвет. Масштабный отрезок – 10 мкм.

Fig. 5. Immunofluorescence staining of a cell culture isolated from the femoral head articular cartilage, (5th passage) with antibodies against NF-200 (green). Cell nuclei are stained with DAPI (blue). A, B – $\times 600$. Scale bar – 10 μm .

Таблица 1/Table 1

Количественный анализ клеток, выделенных из суставного хряща головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра, с положительной экспрессией к нейральным маркерам
Quantification of neural marker-positive cells isolated from the femoral head articular cartilage in congenital hip dislocation

Антитела к нейральному маркеру	2-й пассаж культивирования	4-й пассаж культивирования	p-value
PAX6	8,25 \pm 1,6	4,88 \pm 1,8*	0,003
SOX1	4,75 \pm 0,9	4,1 \pm 1,1	0,1
SOX2	4,1 \pm 1,7	2,6 \pm 0,7*	0,004
Musashi1	3,1 \pm 0,9	2,2 \pm 0,7*	0,02
NF200	5,25 \pm 1,1	6,5 \pm 1,1	0,06

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

относится к основным структурным белкам, особенно сконцентрированным в крупных аксонах. Нейрофиламенты представляют собой гетерополимеры промежуточных нитей IV типа, состоящие из легких, средних и тяжелых цепей. Являясь компонентами цитоскелета, нейрофиламенты составляют аксо-скелет и функционально поддерживают калибр нейронов. Белок нейрофиламента с тяжелой цепью кодируется NCBI геном (NF-H) [6]. NF 200 – белок, который имеет множество изоформ и выявляется в клетках нейрального генеза не только в эмбриональном периоде при формирования нейронных нитевидных сетей, но и в постнатальном периоде. В литературе представлены данные о выявлении NF 200 в клетках нервного гребня [20] в период их эпителиально-мезенхимальной трансформации и миграции. Иммуноцитохимически в культуре клеток 5-го пассажа, выделенных из суставного хряща головки бедренной кости, выявлена положительная реакция с антителами к NF 200. При этом иммунофлуоресцентное окрашивание определялось в длинном отростке клеток (рис. 5 А) и в их теле (рис. 5 В).

Количественный анализ иммунофлуоресцентно выявленных клеток, выделенных из суставного хряща головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра, с положительной экспрессией к нейральным маркерам, на разных сроках культивирования представлен в табл. 1.

Представленные данные свидетельствуют о количественном преобладании иммунофлуоресцентно выявленных клеток с положительной экспрессией к ранним нейральным маркерам на 2-м пассаже культивирования. Уменьшение количества исследуемых клеток с положительной детекцией PAX6, SOX1, SOX2 и Musashi1 на 4-м пассаже может быть расценено как нарастание зрелости клеток нейрального фенотипа. Структурная зрелость клеток исследуемого фенотипа подтверждается увеличением численности NF200-позитивных клеток.

При культивировании клеток, выделенных из гиалинового хряща суставной поверхности головки бедренной кости, были получены клетки двух разных фенотипов. Один тип клеток, на основании положительной иммуноцитохимической реакции к ключевому маркеру хондрогенной дифференцировки (к коллагену II типа), определен как хондробласты и хондроциты – клетки округлой и полигональной формы, формирующие монослой. Эти клетки с 1-го по 5-й пассаж культивирования не проявляли положительного иммуноцитохимического окрашивания на ранние и поздние нейральные маркеры. Второй тип клеток демонстрировал положительное иммуноцитохимическое окрашивание на нейральные маркеры – PAX6, SOX1, SOX2, Musashi1, NF200, и был определен как клетки нейрального генеза. Эти клетки в культуральной посуде располагались обособленно и

имели разное количество длинных отростков, что придавало им биполярный и мультиполярный фенотип. Клетки данной формы сохраняли специфичность своей природы со 2-го по 5-й пассаж включительно – положительная детекция антител на ранние и поздние нейральные маркеры.

Представленные результаты свидетельствуют о наличии клеток нейрального генеза в хрящевой ткани головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра. С нашей точки зрения, присутствие клеток нейрального генеза в суставном хряще головки бедренной кости объясняется нарушением морфогенеза бедренной кости на эмбриональных этапах развития. Формирование тазобедренного сустава происходит из мезенхимальных клеток мезодермы боковой пластинки на 5–6-й неделе эмбриогенеза. Экспоненциальная пролиферация мезенхимальных клеток вызывает выпячивание эктодермы, образуя почки нижних конечностей. В процессе эмбриогенеза миграция клеток нервного гребня происходит одновременно с формированием почек нижних конечностей.

Клетки нервного гребня представляют собой популяцию мультипотентных эмбриональных клеток, которые образуются на боковых границах нейроэктодермальной пластинки, претерпевают эпителиально-мезенхимальную трансформацию и мигрируют на периферию в виде гетерогенной популяции [11]. Формирование почек нижних конечностей происходит на уровне 26–32-й пар сомитов в этот же период, когда происходит миграция клеток нервного гребня через ростральный отдел каждой пары сомитов. Сомитогенез и движение клеток нервного гребня взаимосвязаны. Сегментация сомитов индуцирует миграцию клеток нервного гребня. Каждая пара сомитов определяет движение клеток нервного гребня в своей области, это волнообразный процесс [18]. Изменения в миграции клеток нервного гребня служат причиной нарушения нормального эмбриогенеза, что может потенцировать формирование морфологических инверсий в развивающемся эмбрионе.

В литературных источниках приведены данные о роли клеток нервного гребня в патогенезе сколиотической деформации (формировании позвоночника из передней части сомита) [21], что дает возможность сформулировать предположение о единообразной природе рассматриваемых патологий. Нарушение миграции клеток нервного гребня может приводить к их эктопическому депонированию в сомитах. Так как клетки нервного гребня не детерминированы к хондрогенной дифференцировке, можно предположить, что остановка их миграции в раннем развитии и депонирование в почках нижних конечностей может выступать в качестве первичного этиологического фактора, приводящего к нарушениям

формирования компонентов суставной хрящевой ткани головки бедренной кости, что в дальнейшем развитии проявляется дегенеративно-дистрофическими гистоморфологическими признаками, характерными для дисплазии тазобедренного сустава [20].

Заключение

В результате проведенного исследования, в культуре клеток, выделенных из суставного хряща головки бедренной кости при врожденном вывихе бедра, обнаружены клетки нейрального генеза с положительной экспрессией маркеров к клеткам нервного гребня. Количественный анализ показал уменьшение численности клеток с положительной экспрессией к транскрипционным факторам и Musashi1 со 2-го по 4-й пассаж и увеличение количества NF200-позитивно окрашенных клеток к 4-му пассажи. Представленные результаты свидетельствуют о нарастании структурной зрелости клеток нейрального фенотипа на более позднем пассаже.

Таким образом, можно предположить, что развитие дисплазии тазобедренного сустава (врожденного вывиха бедра) является следствием патологических процессов, связанных с нарушением миграции клеток нервного гребня, их эктопическим депонированием на ранних стадиях эмбриогенеза. Эта гипотеза требует проверки, а предложенный механизм развития заболеваний – дальнейшего изучения. Однако с большей степенью вероятности можно предположить, что присутствие клеток нейральной природы непосредственно связано с дегенеративно-дистрофическими процессами хрящевой ткани суставной поверхности головки бедренной кости.

Список источников / References

1. Малахов О.А., Кралина С.Э. Врожденный вывих бедра (клиническая картина, диагностика, консервативное лечение). М. 2006. 128. Malakhov OA, Kralina SE. Vrozhdennyi vyvikh bedra (klinicheskaya kartina, diagnostika, konservativnoe lechenie). M. 2006. 128. (In Russ.).
2. Пахомова Н.Ю., Кожевников В.В., Строкова Е.Л., Корыткин А.А., Жуков Д.В., Зайдман А.М. Роль молекулярно-генетического метода в современных аспектах диагностики дисплазии тазобедренного сустава. Современные проблемы науки и образования. 2024;2:89. doi: 10.17513/spno.33362. Pakhomova NYu, Kozhevnikov VV, Strokova EL, Korytkin AA, Zhukov DV, Zaidman AM. Rol' molekulyarno-geneticheskogo metoda v sovremennykh aspektakh diagnostiki displazii tazobedrennogo sustava. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2024;2:89. (In Russ.). doi: 10.17513/spno.33362.
3. Строкова Е.Л., Пахомова Н.Ю., Шевченко А.И., Корыткин А.А., Кожевников В.В., Зайдман А.М.

- Фенотипические особенности клеток реберного хряща при воронкообразной деформации грудной клетки. Сибирский научный медицинский журнал. 2023;43(6):203–209. doi: 10.18699/SSMJ20230625.
- Strokovaya EL, Pakhomova NYu, Shevchenko AI, Korytkin AA, Kozhevnikov VV, Zaidman AM. Fenotipicheskie osobennosti kletok rebernogo khryashcha pri voronkoobraznoi deformatsii grudnoi kletki. Sibirskiy nauchnyy medicinskiy zhurnal. 2023;43(6):203–209. (In Russ.). doi: 10.18699/SSMJ20230625.
4. Aki T, Hashimoto K, Ogasawara M, Itoi E. A whole-genome transcriptome analysis of articular chondrocytes in secondary osteoarthritis of the hip. *PLoS One*. 2018 Jun 26;13(6):e0199734. doi: 10.1371/journal.pone.0199734.
 5. Boháček I, Plečko M, Duvančić T, Smoljanović T, Vukasović Barišić A, Delimar D. Current knowledge on the genetic background of developmental dysplasia of the hip and the histomorphological status of the cartilage. *Croat Med J*. 2020 Jul 5;61(3):260–270. doi: 10.3325/cmj.2020.61.260.
 6. Cho T, Tiffany-Castiglioni E. Neurofilament 200 as an indicator of differences between mipafox and paraoxon sensitivity in Sy5Y neuroblastoma cells. *J Toxicol Environ Health A*. 2004 Jul 9;67(13):987–1000. doi: 10.1080/15287390490447287.
 7. Feldman G, Kappes D, Mookerjee-Basu J, Freeman T, Fertala A, Parvizi J. Novel mutation in Teneurin 3 found to co-segregate in all affecteds in a multi-generation family with developmental dysplasia of the hip. *J Orthop Res*. 2019 Jan 37(1):171–180. doi:10.1002/jor.24148.
 8. Gil-Kulik P, Świstowska M, Krzyżanowski A, Petniak A, Kwaśniewska A, Płachno BJ, et al. Evaluation of the Impact of Pregnancy-Associated Factors on the Quality of Wharton's Jelly-Derived Stem Cells Using SOX2 Gene Expression as a Marker. *Int J Mol Sci*. 2022 Jul 10;23(14):7630. doi: 10.3390/ijms23147630.
 9. Gkias I, Boptsi A, Tserga D, Gelalis I, Kosmas D, Pakos E. Developmental dysplasia of the hip: a systematic literature review of the genes related with its occurrence. *EFORT Open. Rev*. 2019 Oct 1;4(10):595–601. doi: 10.1302/2058-5241.4.190006.
 10. Good P, Yoda A, Sakakibara S, Yamamoto A, Imai T, Sawa H, et al. The human Musashi homolog 1 (MSI1) gene encoding the homologue of Musashi/Nrp-1, a neural RNA-binding protein putatively expressed in CNS stem cells and neural progenitor cells. *Genomics*. 1998 Sep 15;52(3):382–4. doi: 10.1006/geno.1998.5456.
 11. Hall B.K. The neural crest and neural crest cells in vertebrate development and evolution. Springer Science Business Media, LLC, 2010. 400.
 12. Herger S, Vach W, Nüesch C, Liphardt AM, Egloff C, Mündermann A. Dose-response relationship of in vivo ambulatory load and mechanosensitive cartilage biomarkers-The role of age, tissue health and inflammation: A study protocol. *PLoS One*. 2022 Aug 19;17(8). doi: 10.1371/journal.pone.0272694.
 13. Hernandez PA, Wells J, Usheva E, Nakonezny PA, Barati Z, Gonzalez R, Kassem L, Henson FMD. Early-Onset Osteoarthritis originates at the chondrocyte level in Hip Dysplasia. *Sci Rep*. 2020 Jan 17;10(1):627. doi: 10.1038/s41598-020-57431-x.
 14. Karim A, Amin AK, Hall AC. The clustering and morphology of chondrocytes in normal and mildly degenerate human femoral head cartilage studied by confocal laser scanning microscopy. *J Anat*. 2018 Apr;232(4):686–698. doi: 10.1111/joa.12768.
 15. Luo Y, Sinkeviciute D, He Y, Karsdal M, Henrotin Y, Mobasheri A, et al. The minor collagens in articular cartilage. *Protein Cell*. 2017 Aug 8(8):560–572. doi: 10.1007/s13238-017-0377-7.
 16. Morys J, Borkowska P, Zielinska A, Kowalski J. Study of the influence of NGF-β gene overexpression in human mesenchymal stem cells on the expression level of SOX1 and neural pathway genes. *Mol Biol Rep*. 2022 Jun 49(6):4435–4441. doi: 10.1007/s11033-022-07283-7.
 17. Osumi N, Shinohara H, Numayama-Tsuruta K, Maekawa M. Concise review: Pax6 transcription factor contributes to both embryonic and adult neurogenesis as a multifunctional regulator. *Stem Cells*. 2008 Jul 26(7):1663–72. doi: 10.1634/stemcells.2007-0884.
 18. Sela-Donenfeld D, Kalcheim C. Inhibition of noggin expression in the dorsal neural tube by somitogenesis: a mechanism for coordinating the timing of neural crest emigration. *Development*. 2000 Nov 127(22):4845–54. doi: 10.1242/dev.127.22.4845.
 19. Talmage MS, Nielson AN, Heflin JA, D'Astous JL, Fedorak GT. Prevalence of Hip Dysplasia and Associated Conditions in Children Treated for Idiopathic Early-onset Scoliosis-Don't Just Look at the Spine. *J Pediatr Orthop*. 2020 Jan;40(1):e49–e52. doi: 10.1097/BPO.0000000000001390.
 20. Zaydman AM, Strokovaya EL, Pakhomova NY, Gusev AF, Mikhaylovskiy MV, Shevchenko AI, et al. Etiopathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis: review of the literature and new epigenetic hypothesis on altered neural crest cells migration in early embryogenesis as the key event. *Med. Hypotheses*. 2021 Jun 151:110585. doi: 10.1016/j.mehy.2021.110585.
 21. Zaydman AM, Strokovaya EL, Kiseleva EV, Suldina LA, Strunov AA, Shevchenko AI, Laktionov PP, Subbotin VM. A New Look at Etiological Factors of Idiopathic Scoliosis: Neural Crest Cells. *Int J Med Sci*. 2018 Mar 6;15(5):436–446. doi: 10.7150/ijms.22894

Информация об авторах

✉Пакхомова Наталья Юрьевна – канд. мед. наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела организации научных исследований; Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна; ул. Фрунзе, 17, г. Новосибирск, 630091
ssi-proekt@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9575-4096>
SPIN 1340-3340

Information about the authors

✉Natalya Yu. Pakhomova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Leading Researcher Research Department of Scientific Research Organization; Y.L. Tsivyan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics; ul. Frunze, 17, Novosibirsk, 630091
ssi-proekt@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9575-4096>
SPIN 1340-3340

Строкова Елена Леонидовна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела организации научных исследований; Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна; estroкова-1985-10-14@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5789-6982>
 SPIN 7647-1088

Шевченко Александр Игоревич – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории эпигенетики развития; Институт цитологии и генетики; epigene@bionet.nsc.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6535-1627>
 SPIN 6965-8607

Кожевников Вадим Витальевич – канд. мед. наук, зав. отделением детской ортопедии; Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна; vadim-barnaul@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2556-3347>
 SPIN 5097-0039

Машак Светлана Владимировна – д-р. мед. наук, профессор, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии; Новосибирский государственный медицинский университет; svetlana_mashak@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0008-4290-1938>
 SPIN 2950-2765

Залавина Светлана Васильевна – д-р. мед. наук, доцент, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии; Новосибирский государственный медицинский университет; zalavinasv@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3405-5993>
 SPIN 8950-8517

Жуков Дмитрий Викторович – д-р. мед. наук, доцент, доцент кафедры травматологии и ортопедии; Новосибирский государственный медицинский университет; zhukdvzhukov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4334-217X>
 SPIN 1425-6403

Корыткин Андрей Александрович – канд. мед. наук, доцент, директор; Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна; niito@niito.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9231-5891>
 SPIN 2273-2241

✉ Elena L. Strokova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Research Department of Scientific Research Organization; Y.L. Tsivyan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics;
 estroкова-1985-10-14@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5789-6982>
 SPIN 7647-1088

Aleksandr I. Shevchenko – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher of Developmental Epigenetics Laboratory; Institute of Cytology and Genetics;
 epigene@bionet.nsc.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6535-1627>
 SPIN 6965-8607

Vadim V. Kozhevnikov – Cand. Sci. (Med.), Head of Pediatric Orthopedics Department; Y.L. Tsivyan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics;
 vadim-barnaul@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2556-3347>
 SPIN 5097-0039

Svetlana V. Mashak – Doct. Sci. (Med.), Professor of Histology, Embryology and Cytology Department; Novosibirsk State Medical University;
 svetlana_mashak@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0008-4290-1938>
 SPIN 2950-2765

Svetlana V. Zalavina – Doct. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of Histology, Embryology and Cytology Department; Novosibirsk State Medical University;
 zalavinasv@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3405-5993>
 SPIN 8950-8517

Dmitrii V. Zhukov – Doct. Sci. (Med.), Associate Professor of Traumatology and Orthopedics Department; Novosibirsk State Medical University;
 zhukdvzhukov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4334-217X>
 SPIN 1425-6403

Andrei A. Korytkin – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of Y.L. Tsivyan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics;
 niito@niito.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9231-5891>
 SPIN 2273-2241

Статья поступила в редакцию 17.01.2025; одобрена после рецензирования 28.08.2025; принята к публикации 29.09.2025.
 Submitted 17.01.2025; Revised 28.08.2025; Accepted 29.09.2025.