

Научная статья

УДК 616–076.5:57.085.23:617.584
doi:10.18499/2225-7357-2026-15-1-50-58
1.5.22 – клеточная биология



Морфометрические особенности клеток пластинки роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта

Е. Л. Строкова¹✉, Н. Ю. Пахомова¹, А. И. Шевченко², В. В. Кожевников¹,
Д. В. Жуков³, С. В. Залавина³, А. А. Яковлева³, М. О. Наурсбаева³,
А. М. Зайдман¹, 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. Цель – исследовать морфометрические показатели клеток пластинки роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта. **Материал и методы.** Исследование проведено на клетках, выделенных из медиальных пластинок роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта III–IV степени. Материал получен от 12 детей (4 мальчиков и 8 девочек) (n=12) в возрасте 3–9 лет в клинике детской ортопедии ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России. Клетки культивировали с 1-го по 4-й пассаж, фиксировали и окрашивали на основные хондрогенные (коллаген II типа и SOX9) и нейральные (SOX2, SOX10, PAX3, PAX6, MSI1, Nestin, HNK1, TUBB3, NF200) маркеры. Морфометрическое исследование иммунопозитивных клеток выполняли с использованием программы ImageJ. Полученные данные обрабатывали стандартными статистическими методами с применением критерия Шапиро–Уилка и t-критерия Стьюдента. **Результаты.** Флуоресцентное окрашивание большинства клеток пластинки роста выявило положительную реакцию на изученные хондрогенные маркеры. Среди этих иммунопозитивных клеток выявлены биполярные и мультиполярные клетки с двумя и более отростками, экспрессирующие ранние (SOX2, SOX10, PAX3, PAX6, MSI1, Nestin, HNK1) и поздние (TUBB3, NF200) нейральные маркеры. В процессе культивирования установлено увеличение доли положительно окрашенных клеток на большую часть изучаемых нейральных маркеров, зафиксирован рост интенсивности свечения, увеличение количества отростков и средней длины отростков. Установлены статистически значимые различия морфометрических показателей (площадь ядра, цитоплазмы и площадь клетки) в сочетании с разницей в ядерно-цитоплазматическом отношении между клетками, экспрессирующими хондрогенные и нейрональные маркеры. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о присутствии клеток нейрального происхождения в пластинке роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта. Подтверждением гипотезы о роли клеток нервного гребня в развитии данной патологии служит позитивное окрашивание на транскрипционные факторы PAX3, PAX6, SOX2, SOX10, а также на маркеры HNK1, MSI1, Nestin и TUBB3.

Ключевые слова: болезнь Блаунта; большеберцовая кость; нейральные маркеры; культура клеток

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Строкова Е.Л., Пахомова Н.Ю., Шевченко А.И., Кожевников В.В., Жуков Д.В., Залавина С.В., Яковлева А.А., Наурсбаева М.О., Зайдман А.М., Корыткин А.А. Морфометрические особенности клеток пластинки роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта // Журнал анатомии и гистопатологии. 2026. Т. 15, №1. С. 50–58. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2026-15-1-50-58>

Original article

Morphometric Features of Growth Plate Cells in the Proximal Tibia in Blount's Disease

E. L. Strokova¹✉, N. Y. Pakhomova¹, A. I. Shevchenko², V. V. Kozhevnikov¹,
D. V. Zhukov³, S. V. Zalavina³, A. A. Yakovleva³, M. O. Naursbayeva³,
A. M. Zaidman¹, A. A. Korytkin¹

¹*Y.L. Tsivyan Novosibirsk Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Novosibirsk, Russia*

²*Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia*

³*Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia*

Abstract. The aim of the study was to study the morphometric parameters of growth plate cells in the proximal tibia in Blount's disease. **Material and methods.** The study was conducted on cells isolated from the medial growth plates of the proximal tibia in Blount's disease grade III–IV. The material was obtained from 12 children (4 boys and 8 girls) (n=12) aged 3–9 years at the clinic of pediatric orthopedics of the Ya.L. Tsivyan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics. The cells were cultured from passages 1 to 4, fixed, and stained for key chondrogenic (collagen type II and SOX9) and neural (SOX2, SOX10, PAX3, PAX6, MSI1, Nestin, HNK1, TUBB3, NF200) markers. Morphometric analysis of immunopositive cells was performed using ImageJ software. The obtained data were processed using standard statistical methods with the application of the Shapiro–Wilk test and Student's t-test. **Results.** Fluorescence staining of most growth plate cells revealed a positive reaction for the studied chondrogenic markers. Among these immunopositive cells, bipolar and multipolar cells with two or more processes expressing early (SOX2, SOX10, PAX3, PAX6, MSI1, Nestin, HNK1) and late (TUBB3, NF200) neural markers were identified. During cultivation, an increase in the proportion of positively stained cells for the majority of the studied neural markers was observed, along with an increase in fluorescence intensity, an increase in the number of processes, and an increase in the mean process length. Statistically significant differences in morphometric parameters (nuclear area, cytoplasmic area, and cell area) combined with differences in the nuclear-to-cytoplasmic ratio were found between cells expressing chondrogenic and neuronal markers. **Conclusion.** The results indicate the presence of cells of neural origin in the growth plate of the proximal tibia in Blount's disease. Positive staining for the transcription factors PAX3, PAX6, SOX2, SOX10, as well as for the markers HNK1, MSI1, Nestin, and TUBB3, supports the hypothesis regarding the role of neural crest cells in the development of this pathology.

Keywords: Blount's disease; tibia; neural markers; cell culture

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

For citation: Strokova E.L., Pakhomova N.Yu., Shevchenko A.I., Kozhevnikov V.V., Zhukov D.V., Zalavina S.V., Yakovleva A.A., Naursbaeva M.O., Zaidman A.M., Korytkin A.A. Morphometric features of growth plate cells in the proximal tibia in Blount's disease. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2026. V. 15, №1. P. 50–58. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2026-15-1-50-58>

Введение

Болезнь Блаунта – это нарушение роста проксимального отдела большеберцовой кости, приводящее к прогрессирующей варусной деформации коленного сустава [10, 16, 17]. В зависимости от возраста начала заболевания выделяют две основные клинические формы: детскую, диагностируемую в возрасте от 2 до 5 лет и в половине случаев являющуюся двусторонней, и подростковую, встречающуюся реже, обычно одностороннюю, менее выраженную и выявляемую у детей старше 10 лет [12]. Изучение болезни Блаунта идет уже более 100 лет, однако нерешенными остаются множество вопросов относительно данной патологии. При прогрессировании деформации единственно эффективным вариантом лечения остается хирургическая коррекция с целью восстановления оси коленного сустава. В то же время до сих пор продолжают споры относительно оптимального оперативного подхода. Проведенные исследования показывают необходимость ранней диаг-

ностики и своевременной терапии заболевания. Продемонстрировано, что самая минимальная частота рецидивов наблюдается у пациентов, получивших лечение в возрасте до 4,5 лет, независимо от используемой хирургической тактики. При оперативном вмешательстве у детей в возрасте от 4,5 до 11 лет частота рецидивов может достигать 39% уже в первые годы наблюдения [3, 17]. При отсутствии лечения болезнь Блаунта приводит к боли, искривлению коленного сустава, несоответствию длины конечностей и нарушению походки [10, 16, 17]. Точная причина развития болезни Блаунта неизвестна [4]. В то же время выделяется несколько предрасполагающих факторов, показавших положительную корреляцию с развитием данного заболевания: ожирение, раннее начало ходьбы, афро-карибское происхождение [5, 12]. Значительным препятствием к пониманию этиологии болезни Блаунта являются немногочисленные данные о структурных особенностях хрящевой ткани в месте локализации патологического процесса. Изучение морфологического

субстрата деформации позволит приблизиться к выявлению причинных факторов и механизмов нарушения роста большеберцовой кости.

Исследование клеток, выделенных из медиальных пластинок роста (эпифизарных пластинок) проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта выявило клетки с нейтральным фенотипом – нейроноподобные клетки [2]. Наряду с хондроцитами детектированы нейроноподобные клетки с двумя или несколькими длинными отростками, позитивно окрашивающиеся на ранние (SOX2, MSI1, PAX6) и поздние (NF200) маркеры нейтральных клеток. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о присутствии клеток нейтрального фенотипа в эпифизарной пластинке. Наличие нейроноподобных клеток может быть связано с эктопической локализацией клеток нервного гребня в ходе эмбриогенеза. Нарушения, возникшие в пренатальном периоде онтогенеза, приводят в постнатальном периоде онтогенеза к формированию патологии коленных суставов. Для подтверждения этой гипотезы необходимо изучение морфометрических показателей клеток пластинок роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта.

Цель работы – исследовать морфометрические показатели клеток пластинок роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта.

Материал и методы исследования

Место и время проведения исследования. Исследование выполнено в Новосибирском НИИ травматологии и ортопедии с марта 2023 г. по январь 2025 г.

Характеристика объекта исследования. Медиальные пластинки роста проксимального отдела большеберцовой кости получены от 12 детей (4 мальчика и 8 девочек) ($n=12$) в возрасте 3–9 лет с односторонней болезнью Блаунта III–IV степени. Средний возраст на момент взятия материала составил 5,8 года. Ключевым критерием включения пациентов в исследование выступил основной диагноз по МКБ-10 – (M21.8) «Другие уточненные приобретенные деформации конечностей». Критериями исключения явилось наличие хромосомных, метаболических и инфекционных заболеваний, аутоиммунных и неврологических патологий, ожирения и сахарного диабета. От представителей всех пациентов получено добровольное информированное согласие на проведение исследования.

Способ формирования выборки. В исследовании использовался неслучайный способ формирования выборки, базирующийся на основном диагнозе и критериях исключения.

Дизайн исследования. Тип дизайна – поисковый. Клинический материал получен при проведении оперативных вмешательств – корригирующая остеотомия большеберцовой кости, временный гемиепифизиодез при болезни Блаунта. Сторона оперативного вмешательства во всех случаях левая.

Методы. Метод культуры клеток. Хрящевую ткань пластинок роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта промывали в DPBS (Servicebio, Китай), измельчали и инкубировали в 1,5% растворе коллагеназы II типа (Servicebio, Китай) 15–19 ч при температуре 37°C. Выделение, подсчет количества и культивирование клеток до 4-го пассажа проводили по протоколу, описанному ранее [1].

Иммунофлуоресцентный анализ. Для иммунофлуоресцентного анализа клетки фиксировали, пермеабилizировали и гибридизировали в блокирующем буфере согласно методике, представленной прежде [2]. После этого в течение 20 ч при 4°C инкубировали с первичными антителами и 1 ч при комнатной температуре со вторичными антителами. Первичные антитела и рабочие разведения: β -Tubulin III (TUBB3) (A17913, ABclonal, Китай, кроличьи моноклональные, 1:200), PAX6 (A7334, ABclonal, Китай, кроличьи поликлональные, 1:100), PAX3 (A1675, ABclonal, Китай, кроличьи поликлональные, 1:100), Musashi-1 (MSI1) (A9122, ABclonal, Китай, кроличьи моноклональные, 1:100), SOX2 (A0561, ABclonal, Китай, кроличьи поликлональные, 1:50), Nestin (A11861, ABclonal, Китай, кроличьи поликлональные, 1:50), нейрофиламин 200 (NF 200) (N0142, Sigma Aldrich, США, мышинные моноклональные, 1:500), HNK1 (ab174437, Abcam, Великобритания, мышинные моноклональные, 1:100), SOX10 (ab221733, Abcam, Великобритания, кроличьи поликлональные, 1:100), SOX9 (A19710, ABclonal, Китай, кроличьи моноклональные, 1:200), коллаген II типа (COL2A1) (A1560, ABclonal, Китай, кроличьи поликлональные, 1:100). Вторичные антитела (Thermo Scientific, США, рабочее разведение – 1:400): Alexa Fluor 488 козьиные антимышинные IgG1 cross-adsorbed (A21121), Alexa Fluor 488 козьиные антикроличьи IgG (H+L) cross-adsorbed (A11008). После каждой инкубации с антителами клетки промывали 2 раза по 15 мин в DPBS. Ядра окрашивали DAPI (Thermo Scientific, США). Съемку проводили в центре коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН на лазерном конфокальном инвертированном микроскопе Olympus FV 3000 (Olympus, Япония), используя программное обеспечение FV31S-SW.

Морфометрический анализ. Морфометрическое исследование результатов иммуноцитохимического окрашивания клеток выполняли с использованием программы ImageJ (США). В каждом образце для всех маркеров

Таблица 1 / Table 1

Интенсивность свечения исследуемых маркеров на разных пассажах культивирования, (M±SD)

Fluorescence intensity of the studied markers at different culture passages, (M±SD)			
Маркер	2-й пассаж	4-й пассаж	p
SOX9	2745,87±205,41	4063,33±304,82	0,00026
Коллаген II типа	423±36,70	415,33±39,84	0,314
SOX2	820,52±73,09	824,61±86,37	0,474
SOX10	777,3±74,29	834,41±73,51	0,307
PAX3	477,2±42,44	493±39,92	0,486
PAX6	1237,8±119,92	1324,75±133,75	0,199
HNK1	527,96±49,15	2810,22±198,45	0,0000057
MSI1 в ядре	1767,57±159,49	2395,3±213,12	0,00016
MSI1 в цитоплазме	371,41±38,52	562,44±51,49	0,00015
Nestin	433,59±42,08	480,15±44,06	0,073
TUBB3	405,94±39,82	384,77±35,22	0,277
NF200	620,5±59,31	894,5±86,78	0,00018

определяли интенсивность окрашивания, исчисляемую в условных единицах (у.е.). Для клеток нейтрального фенотипа определяли количество и длину отростков. Интенсивность свечения и длину отростков клеток анализировали на 2- и 4-м пассажах культивирования, а количество отростков также на первом пассаже. Площадь ядра, площадь цитоплазмы, площадь клетки и ядерно-цитоплазматическое отношение вычисляли на 4-м пассаже. Процент иммунопозитивного материала оценивали путем подсчета положительно окрашенных клеток к общему количеству клеток на 2- и 4-м пассажах. Каждый показатель измеряли в 10 полях зрения.

Статистический анализ. Полученные данные обрабатывали стандартными статистическими методами с помощью программного обеспечения Microsoft Excel (Microsoft, США). Для определения характера распределения значений применяли критерий Шапиро–Уилка. Результаты представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения (M±SD), так как выявлено нормальное распределение данных. Для попарного сравнения групп использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости ниже 5% (p<0,05).

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России (протокол №005/23-1 от 16 февраля 2023 г.).

Результаты и их обсуждение

Культивирование клеток пластинки роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта III–IV степени показало, что большую часть монослоя составляли клетки овальной или полигональной формы с крупным округлым ядром, идентифицированные как хондробласты и хондроциты. Иммуноцитохимическое окрашивание клеток хондрогенного фенотипа выявило по-

зитивное окрашивание на основные хондрогенные маркеры: коллаген II типа – структурный белок межклеточного матрикса гиалиновой хрящевой ткани и SOX9 – транскрипционный фактор, способствующий дифференцировке хондроцитов [13, 20]. Интенсивность свечения коллагена II типа достоверно не различалась в разных образцах и с увеличением пассажа. Для SOX9 средние значения интенсивности изменялись и на 4-м пассаже были выше, чем на 2-м (p=0,00026) (табл. 1, рис. 1).

Меньшую часть монослоя составляли клетки иного фенотипа – биполярной и мультиполярной формы с круглым ядром, с двумя или несколькими длинными отростками. Клетки данного фенотипа в отличие от хрящевых клеток окрашивались на ранние и поздние нейральные маркеры и не давали положительной иммуноцитохимической реакции на хондрогенные маркеры. Иммунофлуоресцентный анализ показал различия в интенсивности свечения оцениваемых нейральных маркеров между рассматриваемыми образцами, а также между пассажами культивирования (табл. 1, рис. 1). Ранние нейральные маркеры SOX2 и SOX10 экспрессировались в 50% образцов, средняя интенсивность свечения между 2- и 4-м пассажами не различалась. Экспрессия PAX3 и PAX6 была детектирована лишь в 2 случаях из 12 и с увеличением пассажа не изменялась.

У HNK1 (маркера клеток нервного гребня) значения интенсивности свечения к 4-му пассажи возражали (p=0,0000057) во всех исследуемых образцах. Интенсивность свечения MSI1 в ядрах и в цитоплазме на 4-м пассаже также была выше по сравнению со 2-м (p=0,00016 и p=0,00015 соответственно). Уровень экспрессии Nestin (маркера недифференцированных нейральных клеток-предшественников) не изменялся при культивировании. Аналогичные данные получены для TUBB3 (маркера нейронов). Интенсивность свечения на 2- и 4-м пассажах статистически значимо не различалась. Экспрессия

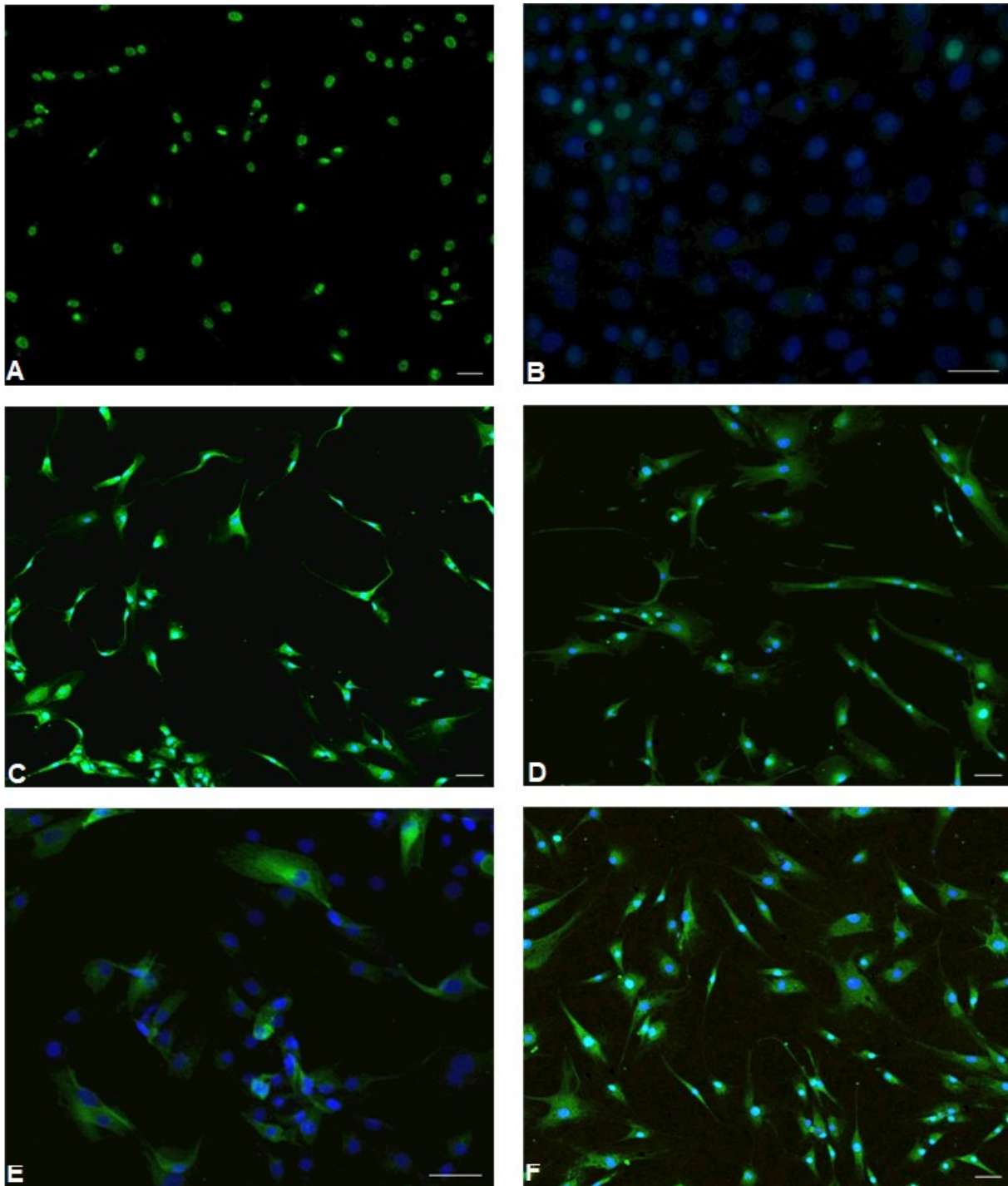


Рис. 1. Иммунофлуоресцентное окрашивание клеток пластинки роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта, 4-й пассаж культивирования. А – антитела к SOX9, В – SOX10, С – HNK1, D – Nestin, E – TUBB3, F – NF200 (зеленый цвет). Ядра клеток окрашены DAPI (синий цвет); $\times 200$ (A, C, D, F), $\times 400$ (B, E). Масштабный отрезок – 10 мкм.

Fig. 1. Immunofluorescence staining of growth plate cells of the proximal tibia in Blount's disease, passage 4 of cultivation. A – antibodies to SOX9, B – SOX10, C – HNK1, D – Nestin, E – TUBB3, F – NF200 (green). Cell nuclei are stained with DAPI (blue); $\times 200$ (A, C, D, F), $\times 400$ (B, E). Scale bar – 10 μm .

другого маркера нейронов – NF200 возроста- ла с увеличением пассажа ($p=0,00018$) (табл. 1, рис. 1).

Анализ клеток нейтрального фенотипа выявил разные доли окрашенных клеток для всех исследуемых маркеров (табл. 2). Мини- мальное количество позитивных клеток де- тектировалось на транскрипционные факто- ры. Доля окрашенных клеток при культиви-

ровании статистически значимо не изменя- лась и на 4-м пассаже в среднем составляла для PAX3 – 1,72%, PAX6 – 1,27%, SOX2 – 1,82%, SOX10 – 1,30%. Для остальных ней- ральных маркеров выявлены различия в про- центном соотношении положительных клеток между 2- и 4-м пассажами. Иммуноцитох- имическая реакция на маркер HNK1 показала увеличение доли флуоресцирующих клеток с

Таблица 2 / Table 2

**Клетки нейрального фенотипа на 2-м и 4-м пассажах культивирования, %
Cells of neural phenotype at passages 2 and 4 of cultivation, %**

Показатель	SOX2	SOX10	PAX3	PAX 6	HNK1	MSI1 в цито- плазме	Nestin	TUBB3	NF 200
Окрашен- ные клетки (2-й пас- саж), %	1,78	1,21	1,71	1,30	6,29	2,83	4,63	2,83	6,69
Окрашен- ные клетки (4-й пас- саж), %	1,82	1,30	1,72	1,27	9,79	6,16	9,83	7,11	14,37
p	0,134	0,228	0,295	0,188	0,0071	0,0034	0,0057	0,0044	0,0012

Таблица 3 / Table 3

**Соотношение клеток нейрального фенотипа с разным количеством отростков с 1-го по 4-й
пассажи культивирования
The ratio of neural phenotype cells with different numbers of processes from
passages 1 to 4 of cultivation**

Показатель	Пассаж 1	Пассаж 2	Пассаж 4
Клетки с 2 отростками, %	59,2	57,5	39,1
Клетки с 3–4 отростками, %	40,8	35,4	45,8
Клетки с 5–7 и более отростками, %	0	7,1	15,1

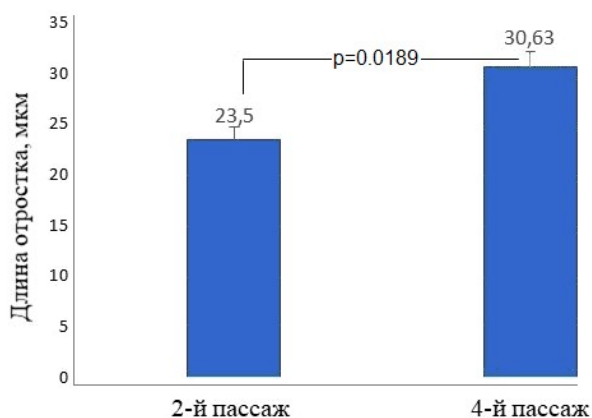


Рис. 2. Длина отростков у клеток нейрального фенотипа на 2- и 4-м пассажах культивирования.
Fig. 2. Process length in neural phenotype cells at passages 2 and 4 of cultivation.

ростом пассажа. На 2-м пассаже среднее значение было равно 6,29%, а на 4-м – возрастало в 1,5 раза (9,79%). Аналогичные данные получены по маркерам MSI1 и Nestin. Доля окрашенных клеток возрастала более, чем в 2 раза для MSI1 – с 2,83% до 6,16% и для Nestin – с 4,63% до 9,83% на исследуемых пассажах соответственно. Подобные изменения наблюдались и для маркеров нейронов NF200 и TUBB3. При культивировании доля позитивных клеток увеличивалась с 2,8 до 7% для TUBB3 и с 6,7 до 14,2% для NF200 (табл. 2).

Морфометрическое исследование выявило изменение процентного соотношения клеток нейрального фенотипа с разным количеством отростков в процессе культивирования (табл. 3). На 1-м пассаже преобладали биполярные клетки – 59,2%, у остальных клеток (40,8%) было детектировано 3–4 отростка и отсутствовали клетки с 5–7 отростками. На

2-м пассаже во всех образцах также преобладали клетки с двумя (57,5%) или 3–4 (35,4%) отростками. Мультиполярные клетки с 5–7 отростками составили 7,1%. К 4-му пассажу соотношение клеток в анализируемых образцах изменялось по сравнению с предыдущими этапами культивирования. Максимальная доля, также как и на 2-м пассаже, представлена клетками с двумя (39,1%) и с 3–4 (45,8%) отростками. В то же время до 15,1% увеличилась доля клеток с 5–7 отростками.

Длина отростков у клеток нейрального фенотипа статистически значимо различалась ($p=0,0189$) на исследуемых пассажах культивирования. На 2-м пассаже их средняя длина составляла $23,50 \pm 2,53$ мкм, к 4-му пассажу увеличивалась до $30,63 \pm 2,71$ мкм (рис. 2).

Морфометрическое исследование двух детектированных типов клеток на последнем этапе культивирования обнаружило отличия по всем рассматриваемым показателям (табл. 4). В клетках хондрогенного фенотипа площадь ядер была в 3,6 раза больше по сравнению с площадью ядер в клетках нейрального фенотипа ($p=0,0022$). Площадь цитоплазмы и площадь клетки при хондрогенном фенотипе была в 2,4 и 2,6 раза выше, чем при нейральном фенотипе. Ядерно-цитоплазматическое отношение в клетках двух разных фенотипов также достоверно различалось ($p=0,0019$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что в пластинке роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта преобладали клетки хондрогенного фенотипа (хондробласты и хондроциты), экспрессирующие коллаген II типа и SOX9. На активную дифференцировку указывает

Таблица 4 / Table 4

**Морфометрические показатели клеток хондрогенного и нейрального фенотипов, (M±SD)
Morphometric parameters of cells of chondrogenic and neural phenotypes, (M±SD)**

Группа сравнения	Площадь ядра, мкм ²	Площадь цитоплазмы, мкм ²	Площадь клетки, мкм ²	Ядерно-цитоплазматическое отношение
Клетки хондрогенного фенотипа	26,86±2,30	91,55±10,38	118,41±10,86	0,288
Клетки нейрального фенотипа	7,28±0,82	37,53±2,97	44,81±3,88	0,189
p	0,0022	0,0015	0,0042	0,0019

детекция и увеличение интенсивности свечения SOX9, локализованного в ядрах клеток, что характерно для хондроцитов [20]. Среди клеток хондрогенного фенотипа присутствовали клетки, окрашивающиеся на нейральные маркеры. Количество данных клеток с увеличением пассажа возрастало, о чем свидетельствует рост количества иммунопозитивных клеток на 4-м пассаже по сравнению со 2-м на ранние (MSI1, Nestin, HNK1) и поздние (TUBB3, NF200) нейральные маркеры [6]. Увеличение доли позитивных клеток согласуется с ростом интенсивности свечения по некоторым нейральным маркерам в процессе культивирования. На 4-м пассаже выявлена высокая экспрессия белка промежуточных филаментов Nestin, характерного для клеток-предшественников нейронов [7]. Увеличивалась также экспрессия NF200, присущего нейронам и составляющего основу их цитоскелета [8, 15]. Аналогичные данные получены и по маркерам клеток нервного гребня HNK1 и MSI1 [7, 18]. Представленные показатели согласуются с возрастанием доли клеток с 3–4 и 5–7 отростками на фоне увеличения длины самих отростков на последних этапах культивирования. Результаты о выявлении клеток двух разных фенотипов подтверждаются и установленными статистически значимыми различиями морфометрических параметров (площадь ядра, цитоплазмы и площадь клетки) в сочетании с разницей в ядерно-цитоплазматическом отношении между детектированными типами клеток. Проведенное исследование позволяет сделать вывод о присутствии нейроноподобных клеток в хрящевой ткани пластинки роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта. В пользу гипотезы о роли клеток нервного гребня в развитии данной патологии свидетельствует положительная иммуноцитохимическая реакция на нейральные маркеры HNK1, MSI1, Nestin, TUBB3 и транскрипционные факторы PAX3, PAX6, SOX2 и SOX10. Известно, что PAX6 экспрессируется клетками-предшественниками (премигрантными клетками) нервного гребня [7], а PAX3 играет важную роль в его формировании [14]. SOX10, как и HNK1, являются характерными маркерами мигрирующих мультипотентных клеток нервного гребня [9, 18, 19]. SOX2, наряду с MSI1 и Nestin, также относятся к основным

маркерам клеток нервного гребня [7, 11]. Экспрессия тубулина (TUBB3), специфичного для мигрирующих клеток нервного гребня [6], в свою очередь служит доказательством выдвинутой гипотезы.

Заключение

Полученные результаты исследования подтверждают присутствие клеток нейрального фенотипа в хрящевой ткани пластинки роста проксимального отдела большеберцовой кости при болезни Блаунта. Иммуноцитохимическая реакция выявила в этих клетках ранние (PAX3, PAX6, SOX2, SOX10, HNK1, MSI1, Nestin) и поздние (NF200, TUBB3) нейральные маркеры. Установлено увеличение доли флуоресцирующих клеток для большей части рассматриваемых маркеров, рост интенсивности свечения, повышение количества отростков и средней длины отростков в процессе культивирования. Анализ морфометрических показателей (площадь ядра, цитоплазмы и клетки) показал различия между клетками хондрогенного и нейрального фенотипов. Положительная реакция на основные маркеры клеток нервного гребня может свидетельствовать о правомерности выдвинутой гипотезы о нарушении миграции этих клеток в эмбриогенезе и их роли в развитии болезни Блаунта в постнатальном периоде онтогенеза.

Список источников/ References

1. 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):197–203. Strokovaya EL, Pakhomova NYu, Shevchenko AI, Korytkin AA, Kozhevnikov VV, Zaidman AM. Fenotipicheskie osobennosti kletok rebernogo khryashcha pri voronkoobraznoy deformatsii grudnoi kletki. [Phenotypic features of rib cartilage cells in funnel-shaped chest deformity]. *Sibirskii nauchnyi meditsinskii zhurnal*. 2023;43(6):197–203. (In Russ.). doi: 10.18699/SSMJ20230624.
2. Строкова Е.Л., Пахомова Н.Ю., Шевченко А.И., Кожевников В.В., Залавина С.В., Машак С.В., и др. Фенотипические особенности клеток медиальной эпифизарной пластинки проксимального отдела большеберцовой кости при

- болезни Блаунта. Журнал анатомии и гистопатологии. 2025;14(2):79–87.
- Strokova EL, Pakhomova NYu, Shevchenko AI, Kozhevnikov VV, Zalavina SV, Mashak SV, et al. Fenotipicheskie osobennosti kletok medial'noi epifizarnoi plastinki proksimal'nogo otdela bol'shebertsovoi kosti pri bolezni Blaunta. [phenotypic features of medial epiphyseal growth plate cells in the proximal tibia in blount's disease]. Zhurnal anatomii i gistopatologii. 2025;14(2):79–87. (In Russ.). doi: 10.18499/2225-7357-2025-14-2-79-87.
3. Adulkasem N, Wongcharoenwatana J, Ariyawatkul T, Chotigavanichaya C, Eamsobhana P. A Predictive Score for Infantile Blount Disease Recurrence After Tibial Osteotomy. *J Pediatr Orthop*. 2023 Apr 1;43(4):299–304. doi: 10.1097/BPO.0000000000002345.
 4. Banwarie RR, Hollman F, Meijs N, Arts JJ, Vroemen P, Moh P, et al. Insight into the possible aetiologies of Blount's disease: a systematic review of the literature. *J Pediatr Orthop B*. 2020 Jul;29(4):323–36. doi: 10.1097/BPB.0000000000000677.
 5. Benes G, Ghanem D, Badin D, Greenberg M, Honcharuk E. The Effect of Socioeconomic Deprivation on Radiographic Deformities in Children With Blount Disease. *J Pediatr Orthop*. 2024 Apr 1;44(4):254–9. doi: 10.1097/BPO.0000000000002608.
 6. Chacon J, Rogers CD. Early expression of Tubulin Beta-III in avian cranial neural crest cells. *Gene Expr Patterns*. 2019 Dec;34:119067. doi: 10.1016/j.gep.2019.119067.
 7. Chen SY, Cheng AMS, Zhang Y, Zhu YT, He H, Mahabole M, et al. Pax 6 Controls Neural Crest Potential of Limbal Niche Cells to Support Self-Renewal of Limbal Epithelial Stem Cells. *Sci Rep*. 2019 Jul 5;9(1):9763. doi: 10.1038/s41598-019-45100-7.
 8. Fujii-Tezuka R, Ishige-Wada M, Nagoshi N, Okano H, Mugishima H, Takahashi S, Morioka I, Matsumoto T. Umbilical artery tissue contains p75 neurotrophin receptor-positive pericyte-like cells that possess neurosphere formation capacity and neurogenic differentiation potential. *Regen Ther*. 2020 Dec 24;16:1–11. doi: 10.1016/j.reth.2020.12.002.
 9. Giovannone D, Ortega B, Reyes M, El-Ghali N, Rabadi M, Sao S, de Bellard ME. Chicken trunk neural crest migration visualized with HNK1. *Acta Histochem*. 2015 Apr;117(3):255–66. doi: 10.1016/j.acthis.2015.03.002.
 10. Herring JA. Tachdjian's Pediatric Orthopaedics: From the Texas Scottish Rite Hospital for Children, 6th ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2020; ISBN 9780323567695.
 11. Jandial R, Singec I, Ames CP, Snyder EY. Genetic modification of neural stem cells. *Mol Ther*. 2008 Mar;16(3):450–7. doi: 10.1038/sj.mt.6300402.
 12. Janoyer M. Blount disease. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2019 Feb;105(1S):111–21. doi: 10.1016/j.otsr.2018.01.009.
 13. Luo Y, Sinkeviciute D, He Y, Karsdal M, Henrotin Y, Mobasher A, et al. The minor collagens in articular cartilage. *Protein Cell*. 2017 Aug;8(8):560–72. doi: 10.1007/s13238-017-0377-7.
 14. Monsoro-Burq AH. PAX transcription factors in neural crest development. *Semin Cell Dev Biol*. 2015 Aug;44:87–96. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.09.015.
 15. Pelegri NG, Gorrie CA, Santos J. Rat Hippocampal Neural Stem Cell Modulation Using PDGF, VEGF, PDGF/VEGF, and BDNF. *Stem Cells Int*. 2019 Mar 18;2019:4978917. doi: 10.1155/2019/4978917.
 16. Raftis D, Helbing J, Dance S, O'Mara A, Tabaie S. Tension-Band Plating for Infantile Blount Disease: Efficacy and Outcomes Comprehensive Review. *Cureus*. 2024 Jun 17;16(6):e62514. doi: 10.7759/cureus.62514.
 17. Ramella M, Depaoli A, Menozzi GC, Gallone G, Cerasoli T, Rocca G, Trisolino G. Recurrence and Complication Rates of Surgical Treatment for Blount's Disease in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med*. 2023 Oct 12;12(20):6495. doi: 10.3390/jcm12206495.
 18. Soto J, Ding X, Wang A, Li S. Neural crest-like stem cells for tissue regeneration. *Stem Cells Transl Med*. 2021 May;10(5):681–93. doi: 10.1002/sctm.20-0361.
 19. Stuepp RT, Modolo F, Trentin AG, Garcez RC, Biz MT. HNK1 and Sox10 are present during repair of mandibular bone defects. *Biotech Histochem*. 2020 Nov;95(8):619–25. Doi: 10.1080/10520295.2020.1744728.
 20. Topol L, Chen W, Song H, Day TF, Yang Y. Sox9 inhibits Wnt signaling by promoting beta-catenin phosphorylation in the nucleus. *J Biol Chem*. 2009 Jan 30;284(5):3323–33. doi: 10.1074/jbc.M808048200

Информация об авторах

✉ Строчкова 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; ул. Фрунзе, 17, Новосибирск, 630091; estrokova-1985-10-14@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5789-6982>
 SPIN 7647-1088

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

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

Information about the authors

✉ Elena L. Strokova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Research Department of Scientific Research Organization; Y.L. Tsvyvan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics; ul. Frunze, 17, Novosibirsk, 630091
 estrokova-1985-10-14@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5789-6982>
 SPIN 7647-1088

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

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

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
Жуков Дмитрий Викторович – д-р. мед. наук, доцент, зав. кафедрой травматологии и ортопедии; Новосибирский государственный медицинский университет; zhukdvzhukov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4334-217X>
SPIN 1425-6403
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
Яковлева Ангелина Андреевна – студент; Новосибирский государственный медицинский университет; yakovlevaa06.05@mail.ru
Наурусбаева Мадина Омаровна – студент; Новосибирский государственный медицинский университет; madina-narusbaeva@mail.ru
Зайдман Алла Михайловна – д-р. мед. наук, профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательского отдела организации научных исследований; Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна; zaydmanam@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6613-1615>
SPIN 7782-5147
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

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
Dmitrii V. Zhukov – Doct. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head of Traumatology and Orthopedics Department; Novosibirsk State Medical University; zhukdvzhukov@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4334-217X>
SPIN 1425-6403
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
Angelina A. Yakovleva – student; Novosibirsk State Medical University; yakovlevaa06.05@mail.ru
Madina O. Naursbaeva – student; Novosibirsk State Medical University; madina-narusbaeva@mail.ru
Alla M. Zaidman – Doct. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher of Research Department of Scientific Research Organization; Y.L. Tsivyan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics; zaydmanam@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6613-1615>
SPIN 7782-5147
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 13.09.2025; одобрена после рецензирования 26.12.2025; принята к публикации 30.03.2026.
Submitted 13.09.2025; Revised 26.12.2025; Accepted 30.03.2026.