

УСИЛЕНИЕ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ОСТЕОКЛАСТОВ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ОПОРНОЙ НАГРУЗКИ

Полковенко О. В.

Институт зоологии им. И.И.Шмальгаузена НАН Украины, Киев

Исследованы особенности резорбции в губчатом веществе бедренных костей крыс в условиях моделированной гипокинезии (модель "вывешивание", продолжительностью 3-4 недели), а также в космических опытах, проведенных на борту американской станции SLS-2 (продолжительность полета - 2 недели). Выявлено, что в условиях сниженной опорной нагрузки резорбция кости происходит за счет усиления активности остеокластов. Установлено появление "гигантских остеокластов" с повышенной функциональной активностью. В условиях невесомости количество "гигантских остеокластов" больше чем при моделированной гипокинезии. Для контрольных животных наличие подобных клеток нехарактерно.

1. Введение

Как известно, организм животных и человека чрезвычайно чувствителен к изменению факторов окружающей среды, и в частности гравитации. Основной мишенью действия гравитации является опорно-двигательная система и, прежде всего, костная ткань. Так, при исследовании трех космонавтов до и после полета на станции "Мир" было обнаружено значительное увеличение костной резорбции, которое косвенно подтверждается выделением коллагена с мочой, и возможно, связано со снижением скорости формирования кости [1]. В экспериментах на крысах и нечеловекообразных обезьянах установлено снижение интенсивности остеопластических процессов в костях, особенно в губчатой кости, снижение ее удельного объема [2]. Отмечено усиление резорбции в метафизах бедренной кости крыс, которые находились на биоспутнике «Бион-9» и станции SLS-2, а также в подвздошной кости обезьян («Бион-11») [3, 4].

Совместные российско-американские исследования показали, что у космонавтов снижается масса костей нижних отделов позвоночника и бедер примерно на 1 % за каждый месяц полета.

Снижение костной массы в условиях космического полета наиболее выражено в нижних отделах костного скелета. Однако вопрос о том, происходит ли в условиях дефицита механической нагрузки, а именно - длительной гипокинезии и микрогравитации усиление резорбции кости, и каковы ее механизмы, остается дискуссионным. Одни исследователи утверждают, что потеря костной массы наблюдается за счет уменьшения интенсивности процессов формирования кости, при этом активность остеокластов остается неизменной [5–8]. По данным Новикова [9] при функциональной разгрузке бедренной кости крыс в возрасте 2.5 мес., а также после космического полета (продолжительностью 19.5 сут) отмечалось усиление остеокластической резорбции без снижения интенсивности процессов формирования кости. Другие авторы считают, что потеря костной массы происходит за счет увеличения интенсивности процессов остео-

кластической резорбции [2] вместе со снижением интенсивности процессов формирования кости [10].

В экспериментах по моделированной гипокинезии на взрослых собаках с использованием иммобилизации продолжительностью 6 мес. было показано, что в этом случае также происходит потеря костной массы и масса костей не возвращается к норме и через 12 мес после снятия иммобилизации [11].

Кроме того, сравнивая гистоморфометрические данные по влиянию 7-дневного космического полета («Биокосмос-1667») с 7-дневным экспериментом по подвешиванию крыс, Вико с соавторами выяснили, что потеря костной массы и в первичной, и во вторичной губчатой ткани была большей в космосе, чем при моделированной разгрузке. Костная резорбция оставалась неизменной в космосе, но у подвешенных крыс значительно увеличилась. Эти данные свидетельствуют о том, что механизмы потери костной массы не совсем идентичны в космосе та в наземных экспериментах по подвешиванию и требуют дальнейших исследований для их познания [12].

Цель нашего исследования - изучение особенностей резорбции в губчатом веществе бедренных костей у крыс с моделированием гипокинезии (модель "вывешивание", продолжительностью 4 недели), а также в космических опытах, проведенных на борту американской станции SLS-2 (продолжительность полета - 2 недели). Исследования проводились в рамках международного научного сотрудничества специалистов Института зоологии НАНУ (отдел цитологии и гистогенеза) и ГНЦ - Института медико-биологических проблем РАН (Москва, Россия).

2. Материал и методы

Материалом служили бедренные кости крыс. Биообразцы фиксировали в 2 % глютаральдегиде с добавлением 1.5 % параформальдегида на фосфатном буфере, pH 7.2 в течение 24 часов.

Затем образцы промывали в 70 % этаноле, кусочки кости дофиксировались в 1 % растворе OsO_4 , обезвоживались в этаноле и заключались в аралдит. Ультратонкие срезы окрашивали по Рейнольдсу и исследовали в электронном микроскопе TESLA-BC-500 (Чехия).

3. Результаты исследования и обсуждение

В губчатой кости крыс, пребывавших на борту американской станции SLS-2, а также участвовавших в эксперименте с моделированием гипокинезии (модель "вывешивание"), наблюдались участки резорбции костного матрикса, которая происходит с участием остеокластов. В минерализованном костном матриксе также видны участки деминерализации. Остеокласты образуют группы клеток. В популяции типичных остеокластов появляются "гигантские остеокласты" (рис. 1). Они имеют 5–6 ядер на ультратонких срезах (рис. 2). Ядрышки четко видны, часто выявляются возле ядерной мембраны. В цитоплазме есть многочисленные вакуоли, хорошо видимые на электронограммах, которые переваривают фагоцитированный выростами "щеточной каемки" ми-

нерализованный костный матрикс (рис. 3, 4). Структура ядрышек свидетельствует о высокой интенсивности синтеза рРНК, что характерно для остеокластов с высокой степенью функциональной активности.

Сильно развитая клеточная периферия "гигантских" остеокластов свидетельствует об их повышенной активности в зонах резорбции. "Светлая зона" содержит мелкофибриллярный компонент, и за счет микрофиламентов прочно удерживает остеокласт на поверхности кости, а хорошо развитая "щеточная каемка" своими выростами внедряется в костный матрикс (рис. 3).

Известно, что расщепление минерализованного костного матрикса в зоне "щеточной каемки" остеокласта происходит за счет экзоцитоза гидролаз и оксикислот. С помощью выростов "щеточной каемки" в зонах резорбции кости имеет место захват остеокластами остеогенных клеток. Остеобласты оказываются окруженными цитоплазмой остеокласта, но при этом остеогенная клетка не разрушается. В дальнейшем остеокласты внедряются в остеоцитные лакуны периферической частью цитоплазмы и растворяют минеральное вещество, которое окружает остеоцит. Такие явления наблюдаются как в норме, так и в условиях микрогравитации [13].

Следует отметить, что "гигантские" остеокласты в образцах кости, взятых у крыс, пребывавших в космосе, встречаются чаще, чем у крыс из опыта с моделированием гипокинезии. Для контрольных животных наличие подобных "гигантских" остеокластов нехарактерно. То есть следует полагать, что в условиях космического полета наиболее выражены повышенная функциональная активность остеокластов и усиленная остеокластическая резорбция кости.

По краям минерализованного костного матрикса в некоторых зонах резорбции обнаружено наличие "бахромы" из утративших кристаллы коллагеновых фибрилл.

Поверхностные участки минерализованной кости могут распадаться на растворяющиеся впоследствии кристаллические конгломераты. Таким образом, обнажается органический компонент кости, который потом разрушается. Выявление между кристаллическими конгломератами клеточного детрита свидетельствует о происходящей здесь деструкции остеогенных клеток.

4. Выводы

В результате исследования были изучены особенности резорбции в губчатом веществе бедренных костей крыс в условиях моделированной гипокинезии (модель "вывешивание", продолжительностью 3–4 недели), а также в космических опытах, проведенных на борту американской станции SLS-2 (продолжительность полета — 2 недели). Выявлено, что резорбция костной ткани при снижении опорной нагрузки может осуществляться за счет усиления функциональной активности остеокластов (выявлены "гигантские" остеокласты). В условиях невесомости количество "гигантские остеокласты" встречаются чаще, чем при моделированной гипокинезии. Для контрольных животных наличие подобных клеток нехарактерно.

1. Smith C. L. Receptor countermeasures to microgravity induced bone loss. *Bioastronautics Investigators' Workshop, Abstract Volume 2001*; USA, Houston: p. 84.
2. [Дурнова Г. Н., Ильина-Какуева Е. И., Морей-Холтон Э. и др. Гистоморфометрический анализ костей крыс после полета на SLS-1 // *Космич. Биология и Авиакосмич. Медицина.*, **28**, 1994, №1. с. 18-20.
3. Родионова Н. В., Оганов В. С., Бакулин А. В. Морфофункциональные изменения в клетках костной ткани при невесомости. Биоспутники «Космос»; *Тезисы Междун. Конф. М.*, 1991. с. 105-106.
4. Rodionova N. V., Shevel I. M., Oganov V. S., et al. Bone ultrastructural changes in BION-11 rhesus monkeys // *J. of Gravit. Physiol.*, vol. **7**, 2000, , №1. pp. 157-161.
5. Vico L., Chappard D., Alexandre C., et al. Effects of weightlessness on bone mass and osteoclast number in pregnant rats after a five-day spaceflight (COSMOS 1514) // *Am. J. Physiol* 1987; vol. **8(2)**, pp. 95-103
6. Vico L., Chappard D., Palle S. Trabecular bone remodeling after seven days of weightlessness exposure,) // *Am. J. Physiol.*, vol. **6**, 1988. pp. 243-247.
7. Collet P., Uebelhart D., Vico L., et al. Effects of 1- and 6-month spaceflight on bone mass and biochemistry in two humans // *Bone* vol. **20(6)**, 1997, pp.547-551.
8. Jee W. S., Wronski T. J., Morey E. R., Kimmel D. B. Effects of spaceflight on trabecular bone in rats // *Am J Physiol* , vol. **244(3)**, 1983, pp. 310-314.
9. Новиков В. Е. Возрастные особенности реакции костной ткани крыс в условиях функциональной разгрузки опорно-двигательного аппарата. Автореф. дисс. М., 1989.
10. Parfitt A. M. Bone effects of space flight: analysis by quantum concept of bone remodelling // *Acta Astronaut.*, vol. **8(9-10)**, 1981, pp.1083-90.
11. Schaffler M. B., Jepsen K. J., and Bloom T. Adult cortical bone recovers from long term disuse osteoporosis by changing its architecture. *Bioastronautics Investigators' Workshop, Abstract Volume 2001*; USA, Houston: p. 92..
12. Vico L., Chappard D., Palle S., et al. Trabecular bone remodeling after seven days of weightlessness exposure (BIOCOSMOS 1667) // *Am J Physiol* 1988 vol **2 (2)** p. 243-247.
13. Rodionova N. V. Functional Morphology of the cells in osteogenesis, (Monography in Russian) Kiev, Naukova Dumka, 1989. 192 p.

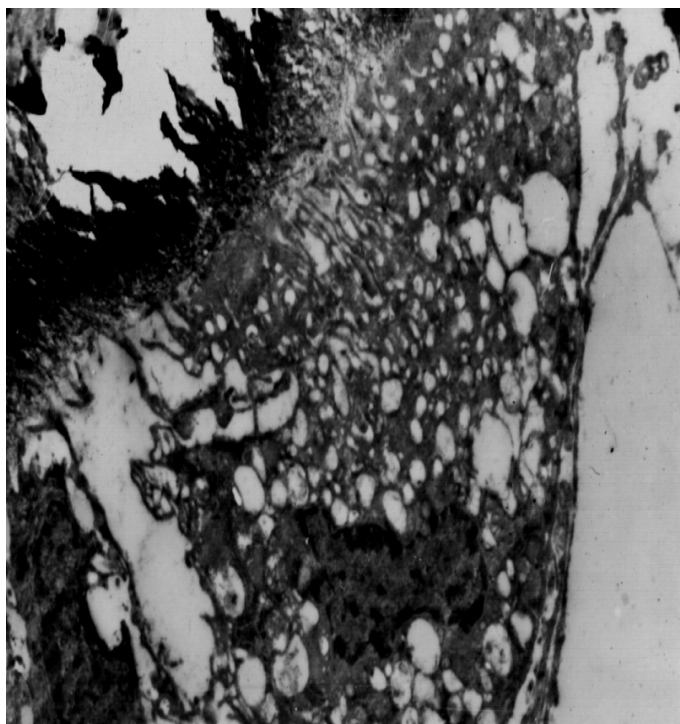


Рис. 1. Фрагмент "гигантского" остеокласта. Полет. Электронограмма x1800

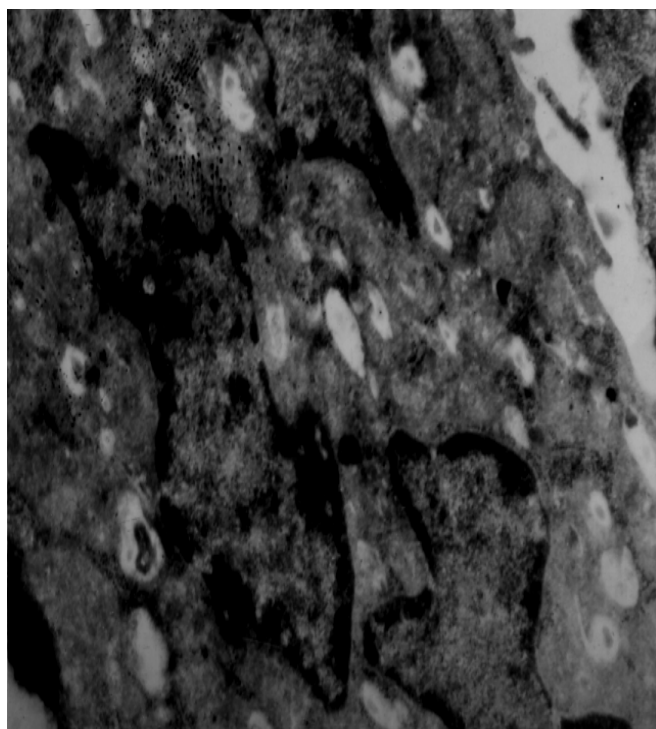


Рис. 2. Фрагмент остеокласта с несколькими ядрами. Полет. Электронограмма x4800

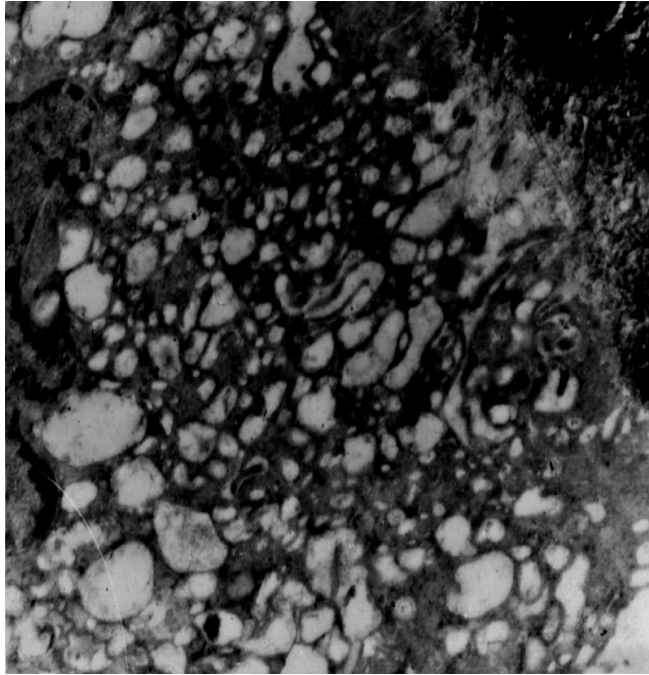


Рис. 3. Фрагмент "щеточной каемки" остеокласта. Полет. Электронограмма x4000

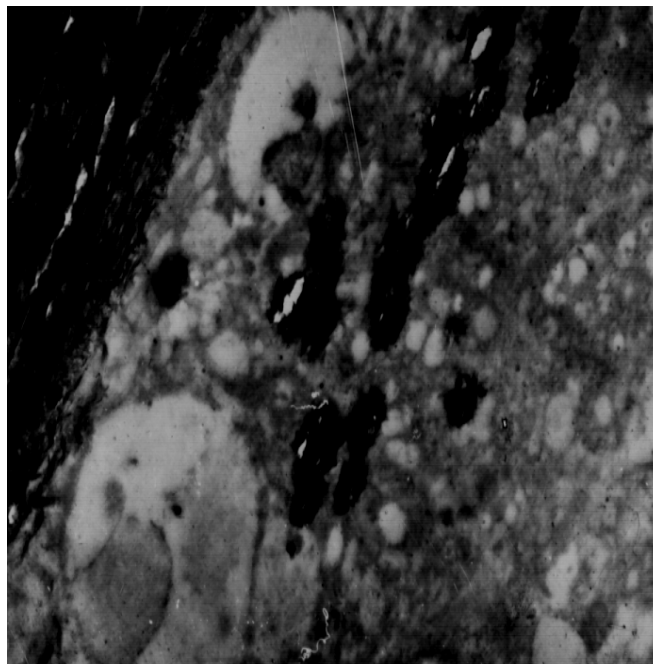


Рис. 4. расщепление костного матрикса в цитофагосомах. Полет. Электронограмма x4800