

А.С. Аврунин и Р.М. Тихилов

ОСТЕОЦИТАРНОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ: ИСТОРИЯ ВОПРОСА, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий, Санкт-Петербург

На основании собственных данных и анализа литературы выделены морфологические маркеры резорбционной и синтетической фаз остеоцитарного remodelирования в физиологических условиях. Их использование различными авторами рассмотрено с учетом истории исследования роли остеоцитов в обмене (синтез и резорбция) окружающего матрикса. В настоящее время возникла настоятельная необходимость проводить количественную оценку остеоцитарного remodelирования, совмещающая стандартные методы гистологического изучения костной ткани и современные возможности систем анализа изображений.

Ключевые слова: *костная ткань, остеоциты, remodelирование, морфологические маркеры*

Плотность расположения остеоцитов в костях человека составляет около 10 000–20 000 клеток в 1 мм³ [33, 43–45], а продолжительность их жизни — 10–20 лет [33]. Эти клетки существуют в пределах лакунарно-канальцевой системы, заполненной внеклеточной жидкостью, обеспечивающей транспорт веществ и огромную поверхность обмена ионами [42, 46]. Цитоплазматические отростки остеоцитов соединяются друг с другом, а также с клетками пограничной линии и остеобластами на поверхности кости, формируя сеть синцития [32].

Такое расположение остеоцитов в костной ткани дает возможность предполагать их участие в обмене окружающего клетки костного матрикса. В настоящее время выделяют три главных механизма тканевого метаболизма кальция кости с участием внеклеточной жидкости: остеоцитарный остеолит, изоионный обмен кальция кости и гетероионный обмен карбоната кальция кости [52]. При этом существует связь между концентрациями вне- и внутриклеточного кальция [35], что, по-видимому, связано с обеспечением физиологических функций остеоцитов. Существуют морфологические свидетельства того, что остеоциты способны как резорбировать, так и откладывать костный матрикс [41]. Это показано при исследовании различных видов позвоночных, в том числе летучих мышей, хомячков, белок, крыс, кроликов, змей, угрей, лосося, карпа, рептилий. Кроме этого, установлено, что remodelирование окружающего остеоциты матрикса активируется при таких физиологических состояниях, как лактация, спячка, беременность, требующих увеличения мобилизации минералов скелета [27].

Впервые предположение о влиянии костных клеток на окружающий их матрикс было высказано в 1857 г., т.е. более 150 лет тому назад, когда Н.Ф. Kilian [36] выдвинул концепцию «халистереза, или галистереза» (halisteresis) (лишение соли), акцентировав внимание на остеоците как одном из участников обмена костной ткани. Согласно этой концепции, деминерализация матрикса происходит без обязательного и одновременного разрушения последнего. Как отмечает А.В. Русаков [3], это прямой вывод из теории Р. Вирхова, в соответствии с которой мертвый субстрат может пропитываться известковыми солями и терять их всецело в зависимости от деятельности окружающих клеток, т.е. остеоцитов. В дальнейшем, в 1881 г. А. Rigal и W. Vignal [49] предположили, что остеоциты играют активную роль в процессе остита, внося вклад в медленное растворение костного матрикса.

Почти через 100 лет после публикации этих теорий F. Bohatirchuk [21] разработал концепцию кальциолиза, в которой также нет прямого морфологического подтверждения роли остеоцитов. Однако ее автор подчеркивал, что на стадии кальциолиза отсутствуют остеокласты. Он считал кальциолиз начальной стадией любого типа резорбции кости, происходящей без явного разрушения органического матрикса. Морфологически этот процесс обычно проявляется небольшой метахромазией затронутой области, и увеличением ее прозрачности для рентгеновских лучей. F. Bohatirchuk связывает процесс декальцификации с концепцией жидкой кости, разработанной А.В. Русаковым [3]. По мнению последнего, в зоне разрушения костного вещества создается кислая

реакция, благодаря чему минеральный компонент растворяется. Одновременно растворяется и белковый компонент. Образовавшаяся жидкость движется по лакунарно-канальцевой системе к сосудистому руслу.

Однако эти концепции, несмотря на их революционность, имеют умозрительный характер. Первые морфологические доказательства влияния остеоцитов на структуру окружающего их матрикса, т.е. морфологические маркеры этого процесса, представил в 1910 г. Ф. Реклингаузен [57]. Автор обнаружил увеличение размеров остеоцитов и на этой основе разработал концепцию «онкоза с перевариванием», ошибочно связывая этот феномен только с развитием рахита и остеомаляцией.

В дальнейшем идея бессимптомной резорбции остеоцитами костного матрикса возникла у нескольких исследователей. Однако морфологические формы этого процесса настолько разнообразны, что, как образно писал L.F. Belanger [12], остеоцитарная резорбция — скромная гостя, трудно распознаваемая под ее многогранными проявлениями. В результате более чем за 150-летний период исследований этого феномена четко не очерчены его морфофункциональные характеристики (маркеры).

Целью настоящего обзора явилось рассмотрение морфологических маркеров резорбционной и синтетической фаз остеоцитарного ремоделирования в физиологических условиях.

После Ф. Реклингаузена [57] морфологические проявления разрушения костного матрикса без участия остеокластов описал С. Zawisch-Ossenitz [58], назвав их «островками базофильной субстанции». Этим термином были охарактеризованы области, наиболее часто встречающиеся в незрелой и перестраивающейся костной ткани. Автор ошибочно связывал этот феномен с присутствием остатков эмбрионального хряща и его кальцификацией. В дальнейшем E.B. Ruth [50, 51], используя более 10 различных красителей, показал, что эти островки встречаются в трабекулах метафиза и в диафизе развивающейся бедренной кости крысы. Во время внутренней гистоморфологической реконструкции в процессе формирования окончательной структуры компактного вещества базофильные островки уменьшаются. При этом их можно видеть и в нормальном зрелом кортикальном веществе бедренной кости, где эти участки относительно маленькие, рассеянные, разнообразной формы. Структура островков варьирует от тонко гранулированной, волокнистой до аморфной. Окраска обеспечивает четкие границы между неизменной и изменен-

ной субстанцией. Используя окраску тионином с пикриновой кислотой по Шморлю, E.B. Ruth [51] выявил в этих зонах каналы и это позволило ему утверждать, что базофильные островки являются модифицированной костной тканью. Часть этих канальцев морфологически не изменены, другие фрагментированы. Фрагментация и исчезновение канальцев, в первую очередь, наблюдаются в центральном участке островка, структура которого почти аморфна. Автор предложил концепцию «областей промежуточной резорбции», подчеркивая, что это физиологическое явление и наличие базофильных островков можно объяснить концепцией промежуточных стадий химической деградации костного вещества в процессе резорбции.

Заключая представленные выше данные, необходимо подчеркнуть, что С. Zawisch-Ossenitz [58] и E.B. Ruth [51] прямо не связывали возникновение феномена базофильных островков с активностью остеоцитов. Тем не менее, они отмечали отсутствие остеокластов в этой зоне, что является косвенным подтверждением участия остеоцитов в резорбции отдельных локусов костного матрикса в период роста скелета и перестройки костных структур.

Первые прямые морфологические доказательства участия остеоцитов в перестройке окружающего их матрикса выявил J. Achard [6], обнаруживший на декальцинированных препаратах светлые ореолы вокруг этих клеток, не зависящие от используемого красителя. Эти ореолы распространяются вдоль лакунарно-канальцевой зоны и переходят без резкой границы в хорошо окрашенный костный матрикс. Автор назвал их «зоной диффузии», или «клеточным ореолом». Размеры ореолов не постоянны и позволяют морфологически проследить расстояние действия остеоцитов на окружающий их матрикс. Это расстояние — эквивалент возрастающей вблизи клеток «кислотности», проявляющейся лабильностью костного матрикса очень сложного состава. J. Achard [6] также установил гистологический эквивалент этих периosteоцитарных ореолов при исследовании зубов. В растущих зубах они выявляются вокруг отростков одонтобластов при окраске дентина и предентина.

Подтверждение описанных результатов было получено через 30 лет H.M. Frost [28], исследовавшим недекальцинированные и необезвоженные препараты большеберцовых и малоберцовых костей, полученные при корригирующей остеотомии у пациентов с витамин D-резистентным рахитом. Автор окрашивал препараты основным фуксином и обнаружил, что диффузное пропиты-

вание костного вещества красителем происходит только в зонах, где минерализация не превышает 85% от максимально возможной. Эта особенность позволяет визуально разделить области низкой и высокой минеральной плотности.

Он показал, что костная ткань в основном была не окрашена, кроме маленьких ореолов вокруг многочисленных лакун остеоцитов. Окрашивались также многочисленные каналцы диаметром 0,35 мкм, соединяющие лакуны с каналом остеона. Только 30% лакун остеоцитов имели перилакунарный окрашенный ореол. По мнению автора, это специфическое снижение минерализации перилакунарной костной ткани — феномен, отражающий специфическую особенность метаболической активности остеоцита, находящегося в лакуне. Он отметил, что, с теоретической точки зрения, результат такого отклонения подразумевает, что остеоцит «купается» во внеклеточной жидкости, состав которой предотвращает полную минерализацию лакун. Он подчеркивал, что если бы причиной этого морфологического феномена являлось только нарушение концентрации неорганических ионов в крови, вызванное заболеванием, то следовало бы ожидать, что вся костная ткань будет одинаково подвергнута этому процессу. Наличие такого феномена только вокруг 30% лакун автору было малопонятно.

Следующим этапом после классической работы J. Achard [6] было исследование M. Heller-Steinberg [31]. Характеризуя его, J.S. Arnold и соавт. [8] отметили, что впервые высказанная ими идея о поступлении в кровоток Ca^{2+} из перилакунарного пула¹ возникла при знакомстве именно с этой работой. В этой связи необходимо отметить, что, согласно современным представлениям, остеоциты регулируют не только метаболизм кальция, но и фосфата [22].

Исследование M. Heller-Steinberg [31] представляет собой классический пример комплексной морфологической оценки связи активности остеоцитов с изменчивостью окружающего их матрикса. Автор изучал дистальный конец бедренной кости и проксимальный — большеберцовой у интактных крыс, используя в числе прочих методик выявление полисахаридов и гликопротеинов по методу Хотчкисса² и минерального компонента кости — импрегнацией нитратом серебра. При ШИК-реакции по Хотчкиссу в цитоплазме не только остеобластов, но и остеоцитов было обнаружено умеренное количество интенсивно окрашенных

красных гранул сферической формы диаметром от 0,3 до 0,6 мкм. Он охарактеризовал их как секреторные гранулы, содержащие предшественники органического матрикса, и сделал вывод о том, что остеоциты, как и остеобласты, способны обеспечивать его перицеллюлярное отложение. Этих гранул много в остеоцитах, локализованных в недавно сформированной костной ткани и активно секреторирующих ее органические компоненты. В старой ткани диафиза остеоциты богаты гликогеном, представленным интенсивно окрашенными красными сетями, простирающимися по отросткам и вокруг ядер. Гидролитическое расщепление гликогена позволяет выявлять описанные выше гранулы.

M. Heller-Steinberg [31] отметил также различия интенсивности окраски лакунарно-каналцевых структур при использовании нитрата серебра. Внутриканальцевая и внутрिलाкунарная зоны имели различные оттенки от светло-серого до коричневого. Канальцы на поперечном срезе представляли собой трубки с черными или коричневыми стенками. Кроме этого, установлено, что в участках губчатого вещества края части лакун имели интенсивно черную окраску. Диафизарная зона демонстрировала меньшую цветовую гамму, а каналцы, в целом, были менее переменны, меньшего диаметра и часто окрашены только слегка темнее, чем окружающий матрикс.

Эта морфологическая картина, по мнению указанного автора, свидетельствует о том, что в физиологических условиях стенки лакунарно-каналцевой системы находятся в состоянии постоянного обмена и что именно остеоциты обеспечивают как резорбцию, так и отложение окружающего их матрикса. При этом, характер и метаболическая активность этих клеток в разных локусах костных структур различны³.

Одновременно с публикацией приведенных выше результатов были представлены данные H. von Kind [56], который изучал реакцию остеоцитов в ранние сроки после перелома. Автор обнаружил появление морфологических маркеров остеоцитарной резорбции перилакунарного пространства в экстремальной ситуации развивающегося локального ответа на поперечный перелом, который формировали у морских свинок закрытым способом в середине большеберцовой кости. Отломки не фиксировали, и животным обеспечивали свободное передвижение в клетке.

¹ Костное вещество глубиной 2–5 мкм вокруг лакуны остеоцита [8].

² Одна из модификаций ШИК-реакции.

³ В настоящее время участие остеоцитов в обмене окружающего минерального матрикса — общепризнанный факт [26, 53], и исследователи пытаются детализировать роль различных регуляторов этого процесса [30].

Через 9 ч после перелома во внутренней части осколков компактного вещества возникал феномен, проявлявшийся увеличением размеров тел и отростков остеоцитов, а также их лакун. Последние приобретали звездчатую форму. Границы расширенных лакун были нечеткими. Канальцы, соединяющиеся с этими лакунами, становились заметными особенно при фазово-контрастной микроскопии. Через 20 ч после травмы в среднем слое компактного вещества остециты в большинстве случаев имели большие размеры, бледное ядро и располагались в увеличенных лакунах. По мнению von H. Kind [56], выявленный феномен является онкозом, имеющим более общий характер, а не свойственный только рахиту и остеомалации, как считал Ф. Реклингаузен. Автор подчеркивает, что этот феномен является вариантом некробиоза остеоцитов с вовлечением периosteоцитарного вещества.

Следующим важнейшим этапом исследования роли остеоцитов в обмене перилакунарного матрикса явился цикл работ L.F. Belanger и соавт. проведенных в 60-е годы прошлого века [10–20, 23]. Авторы адаптировали ряд методик для изучения морфологических характеристик участия остеоцитов в метаболизме окружающего матрикса и определили наблюдаемый морфологический феномен термином «osteоцитарный остеозис».

Для оценки периosteоцитарной активности протеаз L.F. Belanger и соавт. [13] использовали классический тест гидролиза желатины на фотографических пластинках, после проявления которых в зонах гидролиза возникали светлые пятна. На срезах хрящевой, мышечной и плотной соединительной тканей была продемонстрирована низкая перицеллюлярная протеолитическая активность клеток. В то же время, на срезах большеберцовой кости цыплят через 6 сут после вылупления и крыс в возрасте 5 сут в проекции трабекул были показаны области гидролиза небольшого размера, неравномерно овальные и пространственно совпадающие с расположением остеоцитов в наложенном срезе. Полученные результаты подтвердили внеклеточную активность протеаз, связанную с присутствием остеоцитов более зрелого типа. Однако биохимическая интерпретация представленных результатов ограничена, так как доказана только активность протеаз, действующих на желатину, но не определен тип фермента или ферментов, обеспечивающих эту реакцию¹.

¹ Согласно современным данным, остециты обладают не только способностью обеспечивать гидролиз органического матрикса в перилакунарном пространстве, но и синтезируют его компоненты [5, 34].

Для оценки перилакунарной плотности органического матрикса L.F. Belanger и соавт. [13] выбрали метод альфа-радиографии деминерализованных срезов, заключающийся в том, что гистологический препарат, размещенный на фотографической пластинке, облучают альфа-частицами из сферического источника полония, помещенного в аппарат для кожной терапии. После проявления фотопластинок участки снижения плотности органического вещества определяются как более засвеченные локусы. При исследовании срезов деминерализованных костей и зубов было установлено, что органический матрикс, окружающий группы больших остеоцитов и цемтоцитов, имеет более низкую плотность. Этот феномен, наблюдаемый вокруг цемтоцитов, L.F. Belanger и соавт. [12] назвали «цементозом» по аналогии с остеоцитарным остеозисом и показали, что у цементно-дентинного стыка цемтоциты имели большие размеры. Их лакуны были также увеличены и во многих случаях сливались.

Микрорентгенографическая оценка плотности периosteоцитарного минерального матрикса костей, проведенная L.F. Belanger и J. Robichon [20], показала, что около центров трабекул у интактных собак в физиологических условиях выявляется светлая полоса (наиболее минерализованная зона). В этих зонах лакуны части остеоцитов шире, чем на периферии, и поэтому они или располагаются ближе друг к другу, или сливаются. В компактном веществе лакуны большего размера обнаружены в интерстициальной зоне и на периферии остеонов. Паратгормон стимулировал описанные выше морфологические изменения. Это позволяет предположить, что активность остеоцитов находится под прямым контролем системных остеотропных регуляторов. Одним из подтверждений этого является наличие у остеоцитов рецепторов паратиреоидного гормона [54].

Одновременно с циклом экспериментальных исследований, проведенных L.F. Belanger и соавт., были опубликованы данные J. Duriez и соавт. [25], которые изучали фрагменты кости, полученные при операции укорочения контралатеральной конечности в связи с перенесенным остеомиелитом в детском возрасте. Лечение включало две операции укорочения правой большеберцовой кости с интервалом 5 мес. Перед каждой операцией пациентка получала 3 г тетрациклина.

Микрорентгенография, проведенная J. Duriez и соавт. [25] на недекальцифицированных препаратах костной мозоли, выявила увеличенные лакуны и их слияние в интерстициальной зоне. Эти лакуны имели размытые контуры и были окружены зоной меньшей минеральной плот-

ности, чем в соседней костной ткани. Авторы подчеркивали, что эти изображения аналогичны представленным L. Belanger [12] и формально характеризуют резорбцию, которую они определили термином «периостеоцитарный лизис».

Совмещенный анализ результатов микрорентгенографических и гистологических исследований позволил J. Duriez и соавт. [25] морфологически выделить этап начала расширения лакун и наличие менее кальцифицированной пограничной зоны. Они отмечали, что при окраске метиленовым синим лакуны намного меньше, чем выявляемые микрорентгенографически. Дальнейшее расширение полостей приводит к их слиянию, что на препарате проявляется как «соты». На этой стадии остециты погибают и внутри этих полостей много остатков разрушившихся клеток. Гистологический контроль показал отсутствие остеокластов на уровне этих полостей резорбции.

Интересной находкой цитируемого исследования явилось то, что увеличенные остециты обнаруживались преимущественно в интерстициальной зоне (наиболее минерализованной), а при декальцификации этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) в течение 15 мин деминерализация возникает, главным образом, перилакунарно. Последнее, по мнению авторов, определяется менее стабильной фиксацией кальция на органической матрице, что и объясняет феномен лизиса и его системный характер. Тетрациклин, метящий регион мобилизации кальция и соответственно обменной поверхности, дал диффузную интралакунарную флюоресценцию, происходящую наиболее интенсивно в микрорентгенографически увеличенных лакунах.

Качественно новое развитие рассматриваемая проблема получила после публикации С.А. Vaud [9] результатов первых детальных исследований остецитов с использованием не только обычной световой, но и электронной микроскопии. Автор, изучая диафиз бедренной кости мышей, показал, что в остеоцитах представлены, хотя и в меньшей степени, все цитоплазматические структуры, характерные для остеобластов. Он установил, что плотно расположенные рибосомы в большинстве случаев присоединены к мембранам эндоплазматической сети и в целом достаточно обильны, чтобы придать легкую базофилию цитоплазме. Это доказывает, по мнению автора, сохранение механизма синтеза и секреции веществ и свидетельствует об активном участии остецитов в образовании белковых компонентов костного вещества. Согласованность данных цитохимии и электронной микроскопии позволяет рассматривать остециты как активные, а не «отдыхающие»

клетки. На основании результатов электронной микроскопии, были выделены два типа лакун. Первый — лакуны с непрерывными и гладкими контурами, в которых остециты отстоят от их края на 0,17–0,30 мкм. Это пространство заполнено гомогенным или мелкозернистым веществом. Лакуны второго типа имеют нерегулярно шероховатый контур. Клетки в этих лакунах отделены от их края на 0,67 мкм веществом, имеющим хлопьевидную структуру [9].

Соответственно этим типам лакун С.А. Vaud [9] различает два типа остецитов. Остециты первого типа характеризуются ровным или слегка волнистым контуром и локализацией в гладких лакунах. Автор определил эти клетки как «остециты остеобластического типа». Остециты второго типа расположены в шероховатых лакунах; поверхность этих клеток имеет глубокие складки и микроворсинки. Они охарактеризованы как «остециты остеокластического типа». По мнению С.А. Vaud [9], остециты осуществляют ремоделирование перилакунарного матрикса. Фазе интралакунарной резорбции соответствуют лакуны, имеющие шероховатый край, и остециты, снабженные микроворсинками. В фазе отложения лакуны имеют гладкий край, окружающий остециты остеобластического типа. В результате, согласно современным взглядам, остециты, инкорпорированные в минерализованный костный матрикс, поддерживают сохранность перипеллюлярного пространства (50–80 нм), облегчая движение потока жидкости и транспорта метаболитов [39]. Описанные выше структурные варианты могут быть морфологическим эквивалентом различий функциональной реакции остецитов, зависящей от характера деформаций окружающего матрикса, выявленных клетками при прямом механосенсорном контроле окружающей механической среды [55].

Дальнейшее развитие рассматриваемая проблема получила в публикациях W. Remagen и соавт. [47], которые провели электронно-микроскопические исследования дистальных концов бедренных костей крыс и микрорентгенографию мышечелков бедренных костей, головок большеберцовых костей, позвонков, ребер на границе кости и хряща и нижних челюстей у этих животных. Результаты подтвердили наличие двух типов лакун и остецитов (см. выше) и показали, что дигидротахистерол вызывает сильную сморщенность и складчатость плазмолеммы большинства остецитов. Расстояние между ней и краем лакуны у этих клеток («мукополисахаридный футляр» [48]) значительно расширено, а, кроме этого, выявляются многочисленные лакуны без клеток.

Пространства, окружающие клетки, содержат также рассеянный материал, составленный из мельчайших округлых или иглообразных частиц, которые равномерно распределены или упорядочены в «полосы» или скопления. Частицы также найдены в складках плазмолеммы и местах начала канальцев, а их электронная плотность аналогична таковой у кальцифицированного матрикса, окружающего лакуну клетки. В большинстве случаев стенка бесклеточных лакун сильно шероховата и беспорядочно зазубрена. Вокруг части лакун матрикс имеет пятнистый рисунок или прозрачен, так что видны участки коллагеновых фибрилл. Этот ореол уменьшенной минеральной плотности отграничивается от пространства, окружающего клетки тонкой, плотной кромкой.

W. Remagen и соавт. [47] исследовали также влияние пищевого кальция и показали, что у животных с высоким уровнем его потребления микрорентгенографически большинство лакун остеоцитов маленькие, веретенообразные с четкими границами. Расширенные же лакуны с нечеткими границами единичны. Наоборот, у животных с низким потреблением кальция выявлено значительное количество расширенных лакун остеоцитов с нечеткими границами. Заключая этот этап исследования, они подчеркивали, что деминерализация окружающего остеоциты матрикса есть следствие мобилизации кальция клеткой. Подтверждением сказанного является обнаружение в пространстве, окружающем клетки, минеральных частиц. Авторы считали, что это физиологическая мера, и остеоциты мобилизуют в своей окрестности кальций, так что его избыток обнаруживается морфологически в околочлеточном пространстве (электронно-плотные частицы). Другими словами, происходит быстрая мобилизация кальция без растворения основной органической субстанции.

В развитие приведенных данных W. Remagen и соавт. [48] провели электронно-микроскопическое исследование с использованием микрозондирования с диаметром луча микрозонда до 1 мкм. Кальций и фосфор определяли спектроскопически. В связи с тем, что у интактных животных пространство вокруг остеоцитов слишком узкое (1–2 мкм) и луч микрозонда может коснуться как тела клетки, так и минерализованной стенки лакуны, для его расширения исследование проводили после введения крысам дигидротрахистерола. Электронно-микроскопический микрозондовый анализ осуществляли в семи участках внутри двух клеток и в их окружении на срезе дистального конца бедренной кости.

Полученные данные позволяют утверждать, что этот электронно-плотный материал, окружающий клетки (футляр), представляет собой различные минеральные фазы фосфата кальция и в несколько раз богаче этими элементами, чем клетка (таблица). Электронная плотность частиц в нем близка таковой в кальцифицированном матриксе. При этом минеральные частицы, расположенные внеклеточно в локусах 1–3, имеют Са/P ниже, чем в гидроксипатите, а в локусе 4 этот показатель достигает значения, характерного для этого минерала. Таким образом, Са/P в минеральных частицах соответствует или близко к таковому у апатита. По мнению авторов, эти частицы формируются при осаждении предварительно растворенного окружающего минерала матрикса, а так как растворение происходит в избыточных количествах, то поэтому в последующем его избыток осажается и становится морфологически видимым.

Развитие в последние десятилетия иммуно-, цитохимических, генетических методов позволило начать детализацию компонентов органического матрикса, синтезируемых остеоцитами при его реконструкции в перичеселлюлярной зоне. В результате установлено, что эти клетки синтезируют коллаген I типа, фибронектин, остеопонтин, остеонектин, остеокальцин, костный сиалопротеин, фибронектин, витронектин, тромбоспондин, дентин матриксный кислый фосфопротеин 1, костные морфогенные белки 2 и 4, матриксный экстрацеллюлярный фосфогликопротеин и фибриллин-1 и -2 [5, 7, 27, 37].

Рассмотренные в настоящем обзоре морфологические маркеры резорбции и отложения перилакунарного матрикса суммированы в таблице.

Итак, анализ литературы позволил выделить два важнейших аспекта, касающиеся рассматриваемой проблемы. Первый — состоит в том, что остеоцитарное ремоделирование есть морфологически подтвержденный, постоянно функционирующий фазный физиологический процесс, обеспечивающий отложение и резорбцию перилакунарного матрикса. Морфологические маркеры процесса свидетельствуют о том, что существует возможность разработки количественной оценки активности остеоцитарного ремоделирования на основе анализа изображений.

Второй из выявленных аспектов заключается в том, что, с одной стороны, морфологические исследования остеоцитарного ремоделирования фактически прекращены после 1970 г., а с другой — изучение функции и структуры остеоцитов, а также лакунарно-канальцевого пространства продолжается до настоящего времени. Проводятся

Морфологические маркеры остеоцитарного ремоделирования, выделенные на основании анализа литературы

Маркеры	Морфологические характеристики	Номер в списке литературы
Маркеры резорбции	Увеличение размеров остеоцитов	13, 56, 57
	Увеличение размеров лакун и снижение четкости их границ	13, 25, 56, 57
	Базофильные островки в развивающейся костной ткани с ультраструктурой от гранулированной до аморфной. В них выявляются фрагментация и исчезновение канальцев	50, 51, 58
	Светлые неокрашенные ореолы вокруг остеоцитов и цемтоцитов независимо от используемого красителя, без резкой границы переходящие в окрашенный матрикс на декальцированных срезах	6
	Диффузно окрашенный основным фуксином ореол костного вещества вокруг остеоцитов на недеминерализованных препаратах	28
	Гидролиз желатины неправильной овальной формы и пространственно совпадающий с расположением остеоцитов в срезе, наложенном на фотографические пластинки в их проекции	13
	Снижение плотности перилакунарного органического матрикса на деминерализованных срезах при альфа-радиографической оценке гистологических препаратов кости и зубов, размещенных на фотографической пластинке	13
	Микрорентгенографически уменьшение перилакунарной минеральной плотности	20
	Микрорентгенографически перилакунарная деминерализация, приводящая к слиянию увеличивающихся лакун	20, 25
	Микрорентгенографически перилакунарная деминерализация и слияние лакун, формирующие лакунарные соты	25
	Флюоресценция тетрациклина, дающая диффузную интралакунарную фиксацию, происходящую наиболее интенсивно в микрорентгенографически увеличенных лакунах	25
	Электронно-микроскопически лакуны имеют нерегулярно шероховатый контур. Клетки отделены от их края пространством шириной 0,67 мкм и заполненным хлопьевидным веществом	9, 47
	Электронно-микроскопически остеоциты локализованы в шероховатых лакунах, а их плазмолемма имеет глубокие складки и микроворсинки	9, 47
Маркеры синтеза	Электронно-микроскопически пространство, окружающее остеоциты (футляр), расширено и содержит равномерно распределенные отдельные электронно-плотные мельчайшие округлые или иглообразные частицы, или упорядоченные в «полосы» или скопления. Эти частицы выявляются в складках плазмолеммы клеток и местах начала канальцев. Электронная плотность этих частиц аналогична таковой в кальцифицированном матриксе, окружающем лакуну клетки. Вокруг лакун с шероховатыми и беспорядочно зазубренными стенками матрикс имеет пятнистый рисунок или прозрачен, так что видны участки коллагеновых фибрилл	47
	Наличие в цитоплазме остеоцитов, интенсивно окрашенных при ШИК-реакции красных гранул сферической формы от 0,3 до 0,6 мкм	31
	Плотно расположенные гранулы рибонуклеопротеинов, соединенные с мембранами эндоплазматической сети	9
	Электронно-микроскопически лакуны с непрерывными и гладкими контурами. Остеоциты отделены от их края гомогенной или мелкозернистой оболочкой толщиной от 0,17 до 0,30 мкм	9, 47
Электронно-микроскопически остеоциты локализованы в гладких лакунах, а их плазмолемма имеет ровный или слегка волнистый контур	9, 47	
Морфологические недифференцированные маркеры резорбции-синтеза	Различные оттенки от светло-серого до коричневого и черного при импрегнации лакунарно-канальцевых структур нитратом серебра. Канальцы на поперечном срезе представляют собой трубки с черными или коричневыми стенками. Края лакун интенсивно черной окраски	31
	Диффузная интралакунарная флюоресценция тетрациклина, наиболее интенсивная в микрорентгенографически увеличенных лакунах	25

исследования механосенсорной функции остеоцитов [4], межклеточных связей остеоцитов и остеобластов [38], плотности расположения остеоцитов [43, 44], лакунарно-канальцевой системы [24] и т.д. Этот список можно продолжить многими сотнями исследований, которые после 70-х годов [2] прямо или косвенно проводятся в рамках парадигмы остеокластно-osteобластного ремоделирования, являющейся узловым звеном доминирующей сейчас концепции патогенеза остеопороза [29, 40].

В то же время, по нашему мнению, именно остеокитарное ремоделирование является ведущим и основополагающим механизмом поддержания параметров кальциевого гомеостаза [1], и нарушение его функционирования (независимо от этиологических причин) служит пусковым звеном сдвига равновесия в системе остеокластно-osteобластных взаимодействий и последующего развития остеопороза. Поэтому дальнейшие морфологические исследования остеокитарного ремоделирования позволят найти новые подходы к оптимизации функции костных клеток в общем иерархическом континууме организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аврунин А.С., Тихилов Р.М. и Шубняков И.И. Динамическая оценка остеокитарного ремоделирования костной ткани при использовании неинвазивного метода. *Морфология*, 2009, т. 135, вып. 2, с. 66–73.
2. Аврунин А.С., Тихилов Р.М. и Шубняков И.И. Медицинские и околomedicalные причины высокого внимания общества к проблеме потери костной массы. Анализ динамики и структуры публикаций по остеопорозу. *Гений ортопедии*, 2009, № 3, с. 59–66.
3. Русаков А.В. О рассасывании костного вещества и внутрикостном метаболизме. В кн.: *Многотомное руководство по патологической анатомии*. М., Медгиз, 1959, т. 5, с. 73–107.
4. Aarden E.M., Nijweide P.J., Van der Plas A. et al. Adhesive properties of isolated chick osteocytes in vitro. *Bone*, 1996, v. 18, № 4, p. 305–313.
5. Aarden E.M., Wassenaar A.M., Alblas M.J. and Nijweide P.J. Immunocytochemical demonstration of extracellular matrix proteins in isolated osteocytes. *Histochem. Cell Biol.*, 1996, v. 106, p. 495–501.
6. Achard J. Physikochemische Untersuchungen am lamellaren Knochen. *Z. Zellforsch.*, 1935, Bd. 23, H. 4, S. 573–588.
7. Amir L.R., Jovanovic A., Perdijk F.B. et al. Immunolocalization of sialin and RUNX2 proteins during vertical distraction osteogenesis in the human mandible. *J. Histochem. Cytochem.*, 2007, v. 55, № 11, p. 1095–1104.
8. Arnold J.S., Frost H.M. and Buss R.O. The osteocyte as a bone pump. *Clin. Orthop.*, 1971, v. 78, p. 47–55.
9. Baud C.A. Morphologie et structure inframicroscopique des osteocytes. *Acta Anat.*, 1962, v. 51, p. 209–225.
10. Belanger L.F. Alphasradiography: a simple method for determination of mass concentration in cells and tissues. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1959, v. 6, № 2, p. 197–205.
11. Belanger L.F. Resorption of cementum by cementocyte activity («cementolysis»). *Calc. Tiss. Res.*, 1968, v. 2, p. 229–236.
12. Belanger L.F. Osteocytic osteolysis. *Calc. Tiss. Res.*, 1969, v. 4, p. 1–12.
13. Belanger L.F., Belanger C. and Sembai T. Technical approaches leading to the concept of osteocytic osteolysis. *Clin. Orthop.*, 1967, v. 54, p. 187–196.
14. Belanger L.F., Choqjibttb L.P.E. and Cotjsineau J.G. Osteolysis in reindeer antlers: sexual and seasonal variations. *Calc. Tiss. Res.*, 1967, v. 1, p. 37–43.
15. Belanger L.F., Clark I. Alphasradiographic and histological observations on the skeletal effects of hypervitaminoses A and D in the rat. *Anat. Rec.*, 1967, v. 158, p. 443–452.
16. Belanger L.F. and Drouin P. Osteolysis in the frog. The effects of parathormone. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1966, v. 44, p. 919–922.
17. Belanger L.F. and Haktnett A. Persistent toluidine blue metachromasia. *J. Histochem. Cytochem.*, 1960, v. 8, p. 75.
18. Belanger L.F., Migicovsky B.B. Osservazioni alfaradiografiche ed istochimiche sugli effetti del noretandrolone e del calcio-noretandrolone sulle ossa dei pulcini rachitici. *Minerva Med.*, 1961, t. 52, № 46, p. 2116–2118.
19. Belanger L.F. and Migicovsky B.B. Histochemical evidence of proteolysis in bone: the influence of parathormone. *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, v. 11, p. 734–737.
20. Belanger L.F. and Robichon J. Parathormone-induced osteolysis in dogs a microradiographic and alphasradiographic survey. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1964, v. 46, № 5, p. 1008–1012.
21. Bohatirchuk F. Calcilolysis as the initial stage of bone resorption. A stain historadiographic study. *Am. J. Med.*, 1966, v. 41, p. 836–846.
22. Bonewald L.F. Osteocytes as dynamic multifunctional cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2007, v. 1116, p. 281–290.
23. Clark I. and Belanger L. The effects of alterations in dietary magnesium on calcium, phosphate and skeletal metabolism. *Calc. Tiss. Res.*, 1967, v. 1, p. 204–218.
24. Costa L.F., Viana M.P. and Beletti M.E. Complex channel networks of bone structure. *Appl. Physics Letters*, 2006, v. 88, p. 033903.
25. Duriez J., Ghosez J.-P. and de Flautre B. La resorption ou lyse periosteocytaire et son role possible dans la destruction du tissu osseux. *Presse Med.*, 1965, t. 73, № 45, p. 2581–2586.
26. Feng J.Q., Ye L. and Schiavi S. Do osteocytes contribute to phosphate homeostasis? *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2009, v. 18, № 4, p. 285–291.
27. Franz-Odenaal T.A., Hall B.K. and Witten P.E. Buried Alive: How Osteoblasts Become Osteocytes. *Dev. Dyn.*, 2006, v. 235, № 1, p. 176–190.
28. Frost H.M. A unique histological feature of vitamin resistant rickets observed in four cases. *Acta Orthop. Scand.*, 1963, v. 33, p. 220.
29. Frost H.M. and Jee W.S.S. Osteoporosis in 2000 ad: quo vadis? *J. Musculoskeletal Res.*, 2001, v. 5, № 1, p. 1–16.
30. Haddad O., Hawse J.R., Subramaniam M. et al. TIEG1-NUL osteocytes display defects in their morphology, density and surrounding bone matrix. *J. Musculoskeletal Res.*, 2009, v. 12, № 3, p. 127–136.

31. Heller-Steinberg M. Ground substance bone self, and cellular activity in bone formation and destruction. *Am. J. Anat.*, 1951, v. 89, p. 347–379.
32. Huggett J.F., Mustafa A., O'Neal L. and Mason D.J. The glutamate transporter GLAST-1 (EAAT-1) is expressed in the plasma membrane of osteocytes and is responsive to extracellular glutamate concentration. *Biochem. Soc. Trans.*, 2001, v. 30, p. 890–893.
33. Ikeda K. Osteocytes in the pathogenesis of osteoporosis. *Geriatr. Gerontol. Int.*, 2008, v. 8, p. 213–217.
34. Itagaki T., Honma T., Takahashi I. et al. Quantitative analysis and localization of mRNA transcripts of type I collagen, osteocalcin, MMP 2, MMP 8, and MMP 13 during bone healing in a rat calvarial experimental defect model. *Anat. Rec. (Hoboken)*, 2008, v. 291, № 8, p. 1038–1046.
35. Kamioka H., Miki Y., Sumitani K. et al. Extracellular calcium causes the release of calcium from intracellular stores in chick osteocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995, v. 212, № 2, p. 692–696.
36. Killian H. F. Цит. по А.В. Русакову, 1959.
37. Kitahama S., Gibson M.A., Hatzinikolas G. et al. Expression of fibrillins and other microfibril-associated proteins in human bone and osteoblast-like cells. *Bone*, 2000, v. 27, № 1, p. 61–67.
38. Marotti G., Ferretti M., Muglia M.A. et al. quantitative evaluation of osteoblast-osteocyte on growing endosteal surface of rabbit tibiae. *Bone*, 1992, v. 13, p. 363–368.
39. McNamara L.M., Majeska R.J., Weinbaum S. et al. Attachment of osteocyte cell processes to the bone matrix. *Anat. Rec. (Hoboken)*, 2009, v. 292, № 3, p. 355–363.
40. O'Brien F.G., Hardiman D.A., Hazenberg J.G. et al. The behavior of microcracks in compact bone. *Eur. J. Morphol.*, 2005, v. 42, № ½, p. 71–79.
41. Ozawa H. and Amizuka N. Structure and function of bone cells. *Nippon Rinsho*, 1994, v. 52, № 9, p. 2246–2254.
42. Petrov N. and Pollack S.R. Comparative analysis of diffusive and stress induced nutrient transport efficiency in the lacunar-canalicular system of osteons. *Biorheology*, 2003, v. 40, № 1–3, p. 347–353.
43. Power J., Loveridge N., Rushton N. et al. Osteocyte density in aging subjects is enhanced in bone adjacent to remodeling haversian systems. *Bone*, 2002, v. 30, № 6, p. 859–865.
44. Power J., Noble B.S., Loveridge N. et al. Osteocyte lacunar occupancy in the femoral neck cortex: an association with cortical remodeling in hip fracture cases and controls. *Calcif. Tissue Int.*, 2001, v. 69, № 1, p. 13–19.
45. Qiu S., Rao D.S., Palnitkar S. and Parfitt A.M. Reduced iliac cancellous osteocyte density in patients with osteoporotic vertebral fracture. *J. Bone Miner. Res.*, 2003, v. 18, № 9, p. 1657–1663.
46. Reilly G.C., Knapp H.F., Stemmer A. et al. Investigation of the morphology of the lacuno-canalicular system of cortical bone using atomic force microscopy. *Ann. Biomed. Eng.*, 2001, v. 29, № 12, p. 1074–1081.
47. Remagen W., Caesar R. and Heuck F. Elektronenmikroskopische und mikroradiographische Befunde am Knochen der mit Dihydrotachysterin behandelten Rattel. *Virch. Arch. Abt. A. Path. Anat.*, 1968, Bd. 345, S. 245–254.
48. Remagen W., Hohling H. J. and Hall T.A. Electron microscopical and microprobe observations on the cell sheath of stimulated osteocytes. *Calcif. Tiss. Res.*, 1969, v. 4, p. 60–68.
49. Rigal A. and Vignal W. Цит. по L.F. Belanger, 1969.
50. Ruth E.B. Further observations on mythological evidence of osseous tissue resorption. American association of anatomists. Sixty-seventh Annual Session. University of Texas Galveston, Texas, 1954, p. 347.
51. Ruth E. B. Basophilic islands in osseous tissue and their relation to resorption. *Anat. Rec.*, 1961, v. 140, № 4, p. 307–320.
52. Skedros J.G., Grunander T.R. and Hamrick M.W. Spatial distribution of osteocyte lacunae in equine radii and third metacarpals: considerations for cellular communication, microdamage detection and metabolism. *Cells Tiss. Organs*, 2005, v. 180, № 4, p. 215–236.
53. Teti A. and Zallone A. Do osteocytes contribute to bone mineral homeostasis? Osteocytic osteolysis revisited. *Bone*, 2009, v. 44, № 1, p. 11–16.
54. Van der Plas A., Aarden E.M., Feijen J.H. et al. Characteristics and properties of osteocytes in culture. *J. Bone Miner. Res.*, 1994, v. 9, № 11, p. 1697–1704.
55. Van Hove, R., Nolte P.A., Vatsa A. et al. Osteocyte morphology in human tibiae of different bone pathologies with different bone mineral density — Is there a role for mechanosensing? *Bone*, 2009, v. 45, № 2, p. 321–329.
56. Von Kind H. Studien zur Frage der Osteolyse. Histologische und chemische Untersuchungen an experimentellen Frakturen und Transplantaten. *Beit. path. Anat.*, 1951, Bd. 111, H. 2, S. 283–294.
57. Von Recklinghausen F. Цит. по L.F. Belanger, 1969.
58. Zawisch-Ossenitz C. Цит. по E.B. Ruth, 1961.

Поступила в редакцию 12.02.10
Получена после доработки 11.05.10

OSTEOCYTIC BONE REMODELING: HISTORY OF THE PROBLEM, MORPHOLOGICAL MARKERS

A.S. Avrunin and R.M. Tykhillov

On the basis of the authors' own results and the analysis of the literature, the morphological markers of resorptive and synthetic phases of osteocytic bone remodeling under physiological conditions, are discussed. Their application by different authors is considered taking into account the history of the research of the osteocyte role in bone matrix metabolism (synthesis and resorption). Currently, there arose an urgent need for the quantitative assessment of osteocyte remodeling by combining routine histological methods of the osseous tissue study with the possibilities of modern image analysis systems.

Key words: *osseous tissue, osteocytes, remodeling, morphological markers*

Russian R.R. Vreden Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg