

В. И. КАНТОРОВА

**ИНДУКЦИЯ ЭКТОПИЧЕСКОГО ОСТЕОГЕНЕЗА У ВЗРОСЛЫХ
МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРИ ГОМО- И ГЕТЕРОТРАНСПЛАНТАЦИИ
ИЗМЕЛЬЧЕННОЙ КОСТНОЙ ТКАНИ**

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 14 III 1972)

При пересадке собакам в область дефекта свода черепа измельченной костной ткани (костных опилок) ауто-, гомо- или гетерологичного происхождения эта ткань рассасывается, а область дефекта замещается регенерирующей костью, которая без какого воздействия никогда не образуется⁽¹⁻³⁾. По мнению исследователей, изучавших это явление, регенерация в этих случаях происходит путем индукции при участии двух факторов: индуктора (костных опилок) и реагирующего материала (молодой соединительной ткани). Высказывалось и другое предположение: костные опилки являются не индуктором, а лишь каркасом, по которому происходит регенерация черепной кости. Однако при трансплантации в область дефекта черепа автоклавированных костных опилок кость не индуцируется⁽⁴⁾. При использовании опилок, консервированных различными способами, скорость образования и качество образующейся кости зависят от способа консервации трансплантированных опилок^(3, 4). Таким образом, регенерация кости в области дефекта черепа зависит от качества трансплантированных костных опилок, т. е. они являются не пассивным каркасом, а активным фактором образования кости. Но для выяснения вопроса о том, являются ли костные опилки действительно индуктором остеогенеза или же их функция заключается только в воздействии на остеогенные ткани костного ложа, нужны опыты с эктопической трансплантацией костных опилок.

В настоящей работе для выяснения индуцирующей способности костных опилок были поставлены опыты на 40 крысах и 10 морских свинок, которым эктопически трансплантировали костные опилки. Опилки получали в стерильных условиях из поверхностного компактного слоя трубчатых костей взрослых крыс, морских свинок или собак после тщательного удаления надкостницы. В связи с разными способами измельчения, костные опилки были различной величины. Самые мелкие опилки получали с помощью бормашины (длина около 20—30 м) несколько более крупные (длина до 200—300 м) были приготовлены на машине, специально сконструированной для этой цели в Центральном институте травматологии и ортопедии, а самые крупные костные крошки были получены при измельчении кости ножницами. В последнем случае они состояли не только из компактного, но и из губчатого слоев кости. Измельченная кость в объеме около 0,01—0,1 см³ сразу после изготовления гомо- или гетеротрансплантировалась подкожно или внутримышечно. Было поставлено 6 серий опыта (табл. 1).

Животных забивали через 3—45 дней после операции. Трансплантаты с окружающей тканью фиксировали в жидкости Шабдаша, декальцинировали в 15% растворе трилона Б при pH 7,2. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином с эозином и по Ван-Гизон.

Гистологическая картина, наблюдаемая в различных сериях опыта, была довольно сходной, отличаясь лишь в деталях и по срокам развития процесса. Уже в первые дни после трансплантации измельченная костная

ткань отделялась от тканей реципиента соединительнотканной капсулой. Полость капсулы заполнялась грануляционной тканью, окружающей костные опилки. Каждая костная крошка уже через 3 дня после трансплантации была покрыта слоем вытянутых малодифференцированных клеток, напоминающих клетки мезенхимы. К костным крошкам подрастали капилляры. На 3—5 дни после операции на поверхности костных опилок были видны многоядерные остеокласты, рассасывающие опилки, оставляя на их поверхности углубления, «узуры». Вокруг рассасывающихся опилок, на некотором расстоянии от них, через 15—20 дней после операции и далее появлялись скопления лимфоцитов и некоторые другие свободные клеточные элементы.

Таблица 1

№ п.п.	Реципиент	Донор	Число реципиентов	Способ измельчения кости	Область трансплантации
1	Крысы	Крыса	8	Ножницами	Подкожно
2	»	»	8	»	Внутримышечно
3	»	»	8	Бормашиной	Подкожно
4	»	Собака	8	Машинной ЦИТО	Внутримышечно
5	»	»	8	То же	Подкожно
6	Морские свинки	Морская свинка	10	Бормашиной	»

С первых дней трансплантации костные полости опилок заустевали из-за гибели остеоцитов, костный матрикс опилок изменял тинкториальные свойства, гомогенно окрашивался и несколько позже превращался в детрит. Скорость рассасывания опилок была различной в зависимости от их величины и от общего объема трансплантированной ткани. Если опилки, полученные с помощью бормашины, трансплантировали в малом объеме (до $0,01 \text{ см}^3$), то они быстро рассасывались, особенно при трансплантации в мышцу, и изменение их и окружающих тканей можно было проследить не более 2—3 недель. Такие же мелкие опилки, но трансплантированные в несколько большем объеме (около $0,1 \text{ см}^3$) сохранялись на протяжении месяца или несколько дольше и их изменения можно было легко изучать. Крупные осколки кости, измельченной ножницами, рассасывались долго и вызывали медленные изменения в тканях реципиента.

Через 7—15 суток рассасывание опилок, особенно средних по величине, было отчетливо выражено и сопровождалось образованием кости вокруг костных крошек, центробежно или на некотором расстоянии от них (рис. 1а, б, г). На некоторых участках рядом с рассасывающейся костью образовывались островки гиалинового хряща (рис. 1е). Участки новообразованной кости были различной величины и большей частью имели волокнистое строение (рис. 1г). В более поздние сроки, через 15—20—30 суток после трансплантации появлялись островки кости губчатого строения. Новообразование кости или хряща происходило не на всех участках и не равномерно по области, занимаемой трансплантатом. Некоторые костные крошки рассасывались, не образуя кости; на других же участках процесс образования кости или хряща шел довольно интенсивно. Чаще всего новообразование кости или хряща шло по краю трансплантированной ткани, ближе к соединительнотканной капсуле. Участки новообразованной кости и хряща были однородны по гистологическому строению и не имели органотипичности. Ориентировка новообразованной ткани в пространстве определялась в основном расположением костных опилок, вызывающих ее образование.

Через 30—45 дней объем трансплантата заметно сокращался, а иногда происходило и полное его рассасывание. Ткань трансплантата слабее окрашивалась. На участках новообразованной кости в эти сроки тоже наблю-

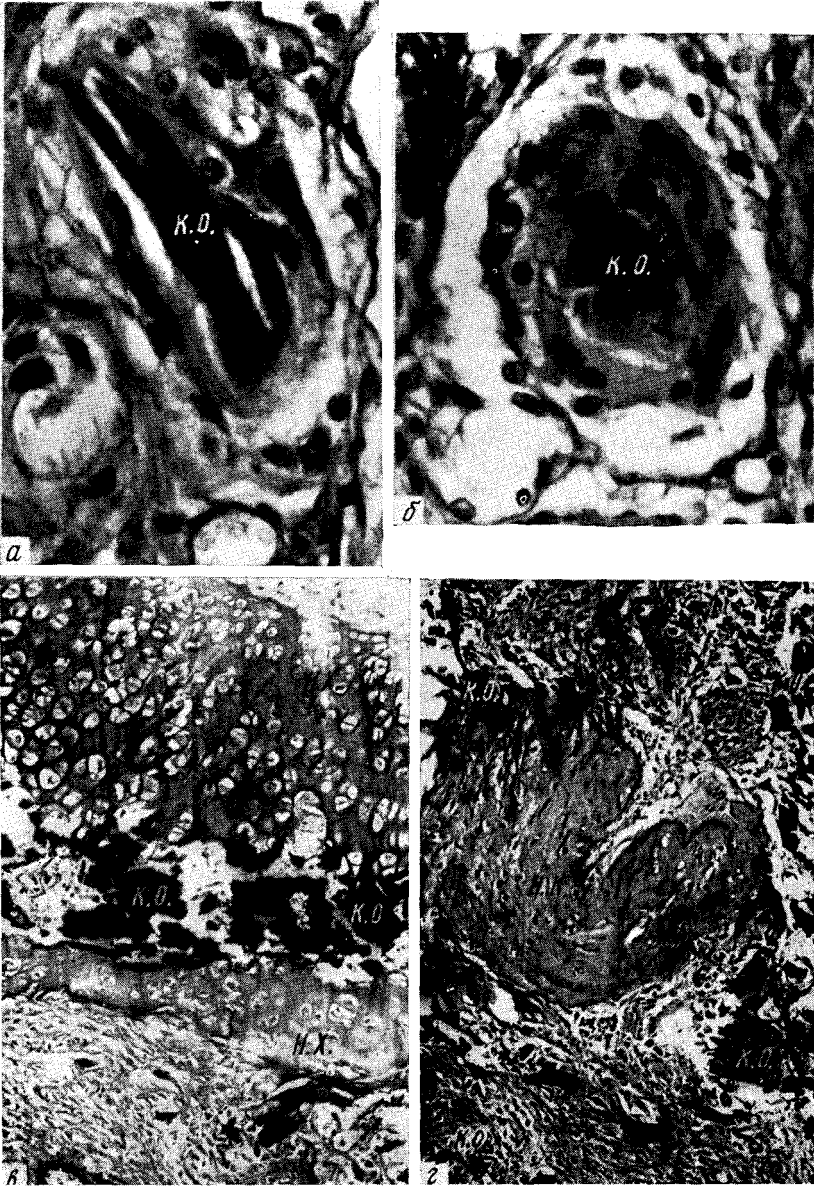


Рис. 1. а, б — гомотрансплантация костных опилок через 8 дней (а) и через 12 дней (б) (крыса — крыса, подкожно, 3 серия опыта), гематоксилин — эозин, ок. 7 ×, об. 40 ×; в, г — гетеротрансплантация костных опилок через 8 дней, подкожно (5 серия) (в) и через 15 дней, внутримышечно (собака — крыса, 4 серия) (г), гематоксилин — эозин, ок. 7 ×, об. 10 ×. к.о. — костные опилки, н.к. — новообразованная кость, н.х. — новообразованный хрящ

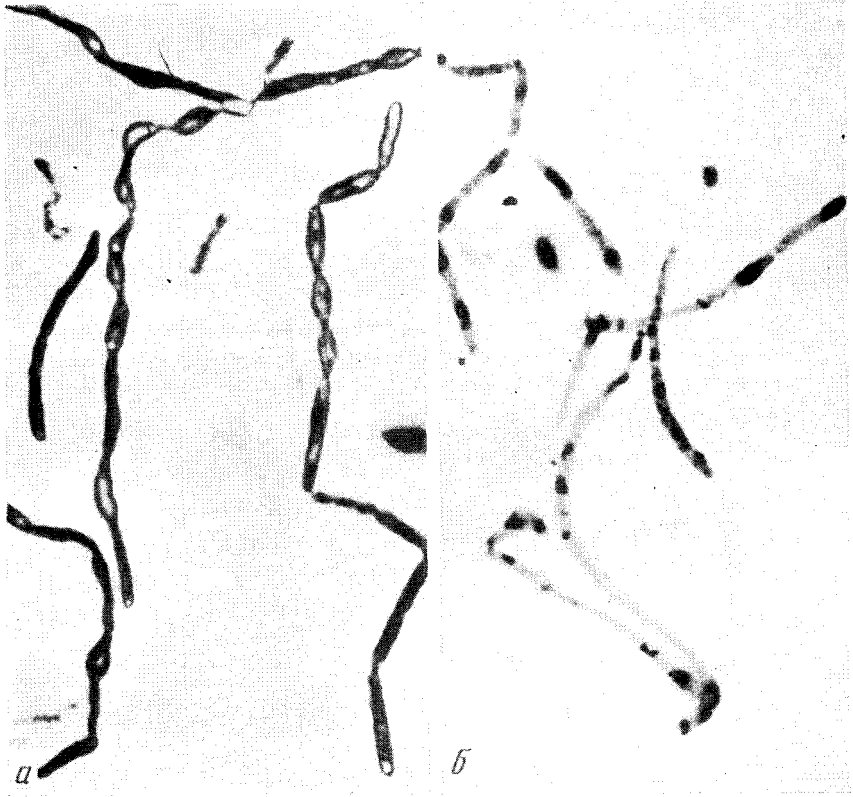


Рис. 2. Реактивные и некробиотические изменения в цепочках бактериальных клеток *Cl. oedematiens* A-79 к концу цикла развития культур на фильтрате. *а* — фазово-контрастная микроскопия, 2600 X; *б* — окраска по методике М. А. Пешкова: дегенеративные изменения ядерных структур, местами с явлениями типа кариорексиса вплоть до их полного исчезновения, 2500 X

дались некоторые признаки рассасывания. При трансплантации относительно крупных осколков кости некоторые из них инкапсулировались и длительно сохранялись почти не рассасываясь. Вокруг таких осколков кость не образовывалась.

При гомо- и гетеротрансплантации мы не обнаружили существенных различий ни в скорости образования кости или хряща, ни в их количестве. Однако эти различия явно обнаруживались в зависимости от величины костных опилок, объема трансплантированной ткани и области трансплантации. При трансплантации в мышечную ткань рассасывание трансплантата и новообразование кости или хряща шло интенсивнее, чем при трансплантации под кожу у тех животных, что может быть связано с лучшими условиями кровоснабжения и питания в мышце. Преимущественное развитие новообразованной кости по краю трансплантированной ткани, видимо, происходило по той же причине. Влияние величины костных осколков и объема трансплантата на интенсивность новообразования кости или хряща, по-видимому, определяется скоростью рассасывания костных осколков.

Новообразование кости или хряща получено во всех сериях опыта почти у всех экспериментальных животных.

Таким образом, в условиях эктопической пересадки костных опилок рядом с ними или вокруг них образуется кость или хрящ. Эктопическое новообразование можно было бы объяснить или отращиванием ткани самого трансплантата, или же его способностью индуцировать хондро- и остеогенез в тканях хозяина. Однако описанная выше морфологическая картина, по нашему мнению, подтверждает представление о том, что новообразование хрящевой и костной ткани в этих условиях является результатом индукционного воздействия тканей донора на ткани реципиента: а) новообразованная ткань располагалась рядом или на некотором расстоянии от трансплантата; б) после пересадки измельченной высокодифференцированной пластинчатой кости, лишенной надкостницы и костного мозга, в тканях хозяина развивалась малодифференцированная кость или даже хрящ; в) в первые дни после пересадки остециты трансплантата погибали, а далее рассасывался и погибал весь трансплантат, что сопровождалось новообразованием кости или хряща; г) новообразование происходило в условиях гомо- и гетеротрансплантации, что возможно только в случае участия в этом процессе тканей реципиента, так как росту тканей гомо- или гетеротрансплантата должен был бы препятствовать иммунологический барьер.

Возможность существования во взрослом организме индукционных воздействий, подобных эмбриональной индукции, предполагалась экспериментальными эмбриологами (3). Индукция кости и хряща во взрослом организме показана экспериментальными многими авторами при эктопическом остеогенезе, вызываемом трансплантацией свежих или убитых кусков костной или хрящевой ткани ауто- или гомологичного происхождения (6-9). Существует также значительное количество работ, в которых показана возможность вызывать эктопическое образование кости или хряща (правда, в несколько меньшем проценте случаев) трансплантацией тканей иной структуры: слизистой мочевого пузыря, амниона, мышц и др. (10-13). Был поднят вопрос о химической природе индуктора остеогенеза. Были получены экстракты из кости, хряща и других тканей, обладающие остео- и хондрогенным действием в 20-30% случаев инъекции этих экстрактов (14, 15). Действующим началом остеогенных субстратов одни авторы полагают нуклеопротеиды и аминокислоты (15), другие придают особое значение сохранению четвертичной структуры коллагена (8). Есть и другие мнения. Но выделить индуктор остеогенеза в чистом виде пока не удалось.

Установлена возможность трансфилтровой передачи индуцирующего действия кости новорожденных (16), а также кости взрослых животных (17). Рядом авторов показано, что один и тот же остеогенный индуктор вызывает образование и кости, и хряща в зависимости от условий питания и кровоснабжения (7, 17, 18). По-видимому, для развития кости нужно лучшее

кровоснабжение и лучшее насыщение ткани кислородом, чем для развития хряща.

Таким образом, сопоставляя эти данные литературы с тем, что получено нами, мы можем считать, что измельченная кость взрослых животных при эктопической трансплантации действует так же, как куски целой эктопически пересаженной кости, вызывая индукцию остео- и хондрогенеза. Поэтому нет оснований отрицать, что такой же процесс может происходить и при трансплантации костных опилок в область дефекта черепа. Однако кость, индуцированная в области дефекта черепа, имеет строение, типичное для костей свода черепа (¹, ³). Кость же, индуцированная эктопически, не имеет органотипичного строения. Создается впечатление, что индуктор остеогенеза, содержащийся в костных опилках, вызывает только общее направление дифференцировки индуцированной ткани, а детали ее строения формируются под влиянием местных условий. Такой взгляд совпадает с существующим представлением о характере действия индуктора в эмбриогенезе (⁵).

По данным экспериментальной эмбриологии (⁵), индуктор не обладает видовой специфичностью. Наши данные о возможности эктопического остеогенеза во взрослом организме не только при гомо-, но даже и при гетеротрансплантации измельченной кости также говорят о том, что индуктор остеогенеза, содержащийся в костных опилках, не обладает видовой специфичностью. Это совпадает с существующим мнением об индукторе остеогенеза, содержащемся в эпителии мочевого пузыря, индуцирующая способность которого показана не только при ауто, но и при гетеротрансплантации (¹³).

Вопрос об источниках реагирующего материала в образовавшейся индукционной системе не был предметом настоящего исследования и будет выясняться в других наших экспериментах.

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
13 III 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. И. Матвеева, Замещение дефектов черепа регенерирующей костью, Изд. АН СССР, 1962. ² Л. В. Полежаев, Журн. общ. биол., 27, № 2, 223 (1966). ³ В. И. Канторова, Г. Н. Жукова, Онтогенез, 2, № 2, 177 (1971). ⁴ В. И. Канторова, К. Д. Тимашкевич, Acta chirurg. plast., 13, 1, 31 (1971). ⁵ М. Саксен, С. Тойвонен, Первичная эмбриональная индукция, ИЛ, 1963. ⁶ De Bruyn, W. T. Kabisch, Am. J. Anat., 96, № 3, 375 (1955). ⁷ J. B. Bridges, J. J. Pritchard, J. Morphol., 92, 28 (1958). ⁸ M. R. Urist, T. A. Dowell et al., Clin. orthop., 59, 59 (1968). ⁹ H. F. Firschein, M. R. Urist, Calcified Tissue Res., 7, 2, 108 (1971). ¹⁰ С. В. Huggins, Arch. Surg., 22, 377 (1931). ¹¹ K. Ostrowski, K. Wlodarski, A. Hlnek, Тез. докл. IX Международн. конгр. анат., Л., 17—22 авг., 1970, стр. 136. ¹² А. Я. Фриденштейн, Экспериментальное внескелетное костеобразование, М., 1963. ¹³ K. Wlodarski, A. Poltarak et al., Experientia, 27, 6, 668 (1971). ¹⁴ G. Levander, Transplantation von Organen und Geweben. Internationales Symposium, 1966. ¹⁵ C. S. Hadhazy, A. Rethy et al., Acta biol. Acad. sci. hung., 19, 3, 288 (1968). ¹⁶ P. Goldhaber, Science, 133, 3470, 2065 (1961). ¹⁷ K. Buring, M. R. Urist, Clin. Orthop., 54, 235 (1967). ¹⁸ А. Н. Студитский, В кн.: Академику Н. В. Насонову ик восьмидесятилетию со дня рождения и шестидесятилетию научной деятельности, Изд. АН СССР, 1937, стр. 441.