

ЭВОЛЮЦИОННАЯ МОРФОЛОГИЯ

А. В. РУМЯНЦЕВ и Л. Ф. БЕРЕЗКИНА

**ДАЛЬНЕЙШИЕ НАБЛЮДЕНИЯ НАД ПРЕВРАЩЕНИЯМИ  
ОСТЕОКЛАСТОВ IN VITRO**

**КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ КОНЕЧНОСТЕЙ КРЫС ПОСЛЕ  
ВВЕДЕНИЯ БОЛЬШИХ ДОЗ ПАРАТОГОРМОНА**

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 15 IV 1944)

Действие гормона окологитовидной железы (г. о. щ. ж.) на ткани костной системы лабораторных животных изучено достаточно подробно. Нам удалось показать, что гистогенетический эффект г. о. щ. ж. можно получить и в костной системе вне организма (1). Для этой цели мы высаживали кусочки os femoris куриного эмбриона в среду, насыщенную г. о. щ. ж. При такой постановке опыта мы получали в культурах заметное увеличение остеокластов и превращение остеобластов в веретенновидные клетки. В предыдущих наших исследованиях (2), анализируя процессы гистогенеза остеокластов как *in vivo*, так и *in vitro*, мы пришли к выводу, что остеокласты представляют специфическую дифференцировку костной мезенхимы, возникающую только в костной системе. Этот вывод приходится сделать, основываясь на следующих наблюдениях. В чистых культурах остеогенной мезенхимы ни при каких экспериментальных условиях, включая и те случаи, когда в эксплантате начинает развиваться настоящая кость, не удается вызвать образования остеокластов. Указание Glücksmann'a (3) на присутствие остеокластов в развивающейся *in vitro* кости под влиянием натяжения нуждается в проверке. Очень возможно, что он видел не остеокласты, а макрофаги, которые и мы находим довольно часто в культурах костной ткани. Макрофаги видели и в кости при экспериментальном фиброзном остеоите на препаратах С. А. Ивановой (4), а недавно они описаны при тех же условиях McLeen и Bloom (5). Далее, наблюдая за изменением остеокластов, вышедших в среду культуры, можно было совершенно определенно установить, что остеокласты 1) неспособны к фагоцитозу, 2) никогда не развивают ундулирующих мембран, 3) не превращаются в макрофагов, 4) не делятся, а просуществовав некоторое время в виде малоподвижных клеток, в конце концов дегенерируют и распадаются. Однако, поскольку в зоне роста культивируемых нами кусочков os femoris куриного эмбриона остеокластов встречалось вообще немного, нам самим казалось необходимым подкрепить наши заключения на таком материале, который позволил бы иметь большое количество остеокластов в зоне роста. Для этой цели мы высаживали кусочки, взятые из костей конечностей молодых крыс, которым предварительно вводились в течение 7—14 дней г. о. щ. ж. в дозах, достаточных для появления экспериментального фиброзного остеоита. У таких животных в их трубчатых костях на границе между диафи-

зом и эпифизом, непосредственно под хрящевой пластинкой роста, можно видеть огромное количество остеокластов. Осторожно удалив эпифиз, мы выбирали острыми инструментами поверхностно расположенный клеточный материал, переносили в раствор Рингера, измельчали и эксплантировали наши кусочки по классическому методу Каррелля. Средой служили плазма крысы + Рингер + незначительная капля эмбрионального экстракта цыпленка.

Всего было поставлено 50 культур.

Во всех поставленных культурах уже через 1 сутки мы находили хорошо развитую зону роста, состоящую из различных клеточных элементов.

Образование зоны происходило следующим образом. По большей части уже с первых часов эксплантации в среду начинали перемещаться активно двигающиеся амебоидные элементы, а затем через 24 часа появлялись веретеновидные клетки гистиоциты и большие, медленно двигающиеся остеокласты. В некоторых культурах сразу начинается рост мезенхиматозных элементов, а вместе с ними появлялись и остеокласты. Первый тип очевидно соответствовал росту ткани, взятой из более глубоких частей *os femoris*, в то время как второй получался из ткани, образующей зону дезинтегрирующей спонгиозы, лежащей поверхностно.

Подробно клеточные элементы зоны роста нами описаны в другой работе, здесь же мы остановимся только на поведении остеокластов. Для этой цели лучше всего проводить наблюдения на фиксированных и окрашенных препаратах. В зоне роста наших культур можно было найти очень значительное количество остеокластов. Это по большей части округлые клетки, с хорошо окрашивающимся эллипсоидным ядром, которое по величине немного меньше, чем ядро остеогенных звездчатых элементов, образующих зону роста. Ядро богато хроматином и обычно содержит несколько крупных глыбок. Протоплазма всегда плотна, не имеет больших вакуолей и всегда окрашена, так как окрашивается или оксифильно или нейтрофильно. Наряду с большими многоядерными остеокластами в культурах вокруг кусочка и по периферии зоны роста можно найти большое количество одноядерных остеокластов округлой или грушевидной формы. Ядро одноядерных остеокластов располагается эксцентрично, и поэтому они напоминают больших, вернее гигантских, гипертрофированных моноцитов. Однако при наблюдении *in vivo* можно сразу заметить между ними резкое различие. В то время как моноциты и гистиоциты подвижны, остеокласты обладают весьма малой подвижностью. Это особенно характерно для многоядерных форм. Выйдя в среду, эти большие клетки обычно недалеко отходят от кусочка. Большие многоядерные остеокласты всегда округленной формы, но в некоторых случаях, когда остеокласты распластываются по стеклу, они выпускают отростки, иногда прямой, иногда причудливой формы, придающие клеткам самую разнообразную форму. Однако у остеокластов крыс нам не удалось видеть таких необычных ризоидов протоплазмы, какие мы описывали для остеокластов куриного эмбриона. Иногда в некоторых культурах у одноядерных остеокластов наблюдалась гипертрофия центрозомы; но и такие формы с гипертрофированной центрозомой не развивали никаких мембран и не двигались активно. Мы никогда не наблюдали деления остеокластов в зоне роста, как ни разу не могли отметить их образования путем слияния отдельных клеток. В некоторых случаях мы находили явные следы фрагментации ядер остеокластов в зоне роста, но наряду с этим подобные остеокласты, как правило, имели и явные признаки дегенерации. Так же как и для остеокластов цыпленка, кроме некоторого изменения формы мы не могли отметить никаких превращений остеоклас-

тов ни в типичные макрофаги тканевых культур, ни в клетки мезенхимного вида.

Можно было бы ожидать, что одноядерные остеокласты, как клетки более молодые, еще не утратили способности к превращениям, но изучая их поведение мы должны были прийти к выводу, что и они представляют в высшей степени стабильные клетки, неспособные к превращениям, т. е. клетки строго детерминированные с законченной потенцией развития. Судьба всех остеокластов *in vitro* — гибель. Но переживать они могут довольно длительное время. Так, в некоторых культурах в зоне роста мы отмечали хорошо сохранившиеся одноядерные остеокласты на 5-6 день культивирования. Многоядерные остеокласты встречались и в культурах второго пассажа, но в культурах третьего пассажа мы их уже не находили. Изучая срезы из поставленных культур, можно встретить остеокласты среди клеток остеогенной мезенхимы, но никогда и на срезах не удавалось нам видеть их образования из мезенхимных клеток. Повидимому, образовавшись в системе костных тканей, остеокласты вновь не возникали в условиях культивирования *in vitro*. Это обстоятельство, при сопоставлении с нашими данными, полученными на культурах из *os femoris* цыпленка, еще раз указывает, что ведущим фактором их образования является г. о. щ. ж., отсутствовавший в среде наших культур. Таким образом, проведенное нами изучение остеокластов крысы *in vitro* вполне подтверждает высказанное нами предположение о специфичности остеокластов, возникающих только в костной системе и представляющих законченную стадию развития остеогенной мезенхимы. Сравнение с гематогенными и гистоидными элементами костного мозга, которые всегда присутствовали в наших культурах, с особой отчетливостью подчеркивает различие между этими элементами. Остеокласты всегда больше по размерам, обладают более плотной протоплазмой и неспособны к фагоцитозу, на что совершенно правильно обращают внимание в своей недавней работе McLeen и Bloom (5).

Институт эволюционной морфологии  
им. акад. А. Н. Северцова  
Академии Наук СССР

Поступило  
15 IV 1944

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> А. В. Румянцев и Л. Ф. Березкина, ДАН, XLIII, № 6 (1944). <sup>2</sup> А. Румянцев, ДАН, XXXIII, № 6, 429 (1941). <sup>3</sup> A. Glücksmann, Anat. Rec., 72, 97 (1938). <sup>4</sup> С. Иванова, Изв. АН СССР, сер. биол., № 4 (1941). <sup>5</sup> McLeen and Bloom, Arch. of Path., 32, 315 (1941).