

*А. С. Аврунин и Л. К. Паршин*

## ИЕРАРХИЧЕСКИ ОРГАНИЗОВАННАЯ МОДЕЛЬ ВЗАИМОСВЯЗИ КЛЕТОЧНЫХ И ТКАНЕВЫХ МЕХАНИЗМОВ ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ МЕЖДУ КОСТЬЮ И КРОВЬЮ

Российский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р. Р. Вредена, Санкт-Петербург; кафедра сопротивления материалов (зав. — проф. Б. Е. Мельников), Санкт-Петербургский государственный политехнический университет

Цель работы: на основании результатов собственных исследований и данных литературы предложить иерархически организованную модель взаимосвязи морфологических механизмов с участием биохимических основ обмена  $\text{Ca}^{2+}$  между костью и кровью. Показано, что остеоциты, контролируя пространственно-временную активность большинства известных механизмов перестройки архитектуры скелета (остеокласто-остеобластное remodelирование, моделирование, остеоцитарное remodelирование и др.), т. е. разрушение и формирование минеральной основы матрикса, тем самым осуществляют контроль обмена кальция между костью и кровью. Установлена иерархическая организация механизмов этого обмена. Первый уровень обмена  $\text{Ca}^{2+}$  соответствует линии раздела между костью и кровью и осуществляется без разрушения костного матрикса, путем энергонезависимой парацеллюлярной диффузии  $\text{Ca}^{2+}$  из крови в кость и энергозависимого трансцеллюлярного перемещения  $\text{Ca}^{2+}$  из кости в кровь. Второй уровень — обмен кальция происходит на линии раздела костный матрикс — межклеточная жидкость путем остеоцитарного remodelирования при резорбции или формировании матрикса стенок лакунарно-канальцевой системы. Третий уровень включает механизмы остеокласто-остеобластного remodelирования, действующие на линии раздела кость — кровь. Рассчитана масса пула быстро обмениваемого кальция, которая достигает 58,5 г, что в 11 раз выше, чем считалось до настоящего времени.

**Ключевые слова:** костная ткань, остеоциты, остеокласты, остеобласты, обмен кальция

Участие костной ткани в процессах регуляции содержания кальция в крови общепризнано [54, 61, 67, 73], но роль отдельных ее механизмов продолжает оживленно дискутироваться [12, 54, 61]. Главное в этих дискуссиях — возможность «мгновенной» коррекции содержания кальция в крови путем его перемещения из костей в кровь и обратно, без активации остеокласто-остеобластного remodelирования (ООР) [45, 46, 52, 54]. В этой связи необходимо подчеркнуть, что если 30–40 лет назад ведущую роль в поддержании кальциевого гомеостаза большинство участников дискуссии отводили ООР [3], то в настоящее время акценты сместились и все больше внимания уделяется роли остеоцитов в этом процессе [29, 71]. Это вызвано появлением новых фактов, позволяющих утверждать, что остеоциты, инициируя процесс механотрансдукции, контролируют пространственно-временную активность большинства известных механизмов перестройки архитектуры скелета (ООР, моделирование, остеоцитарное remodelи-

рование и др.), т. е. разрушение и формирование минерального матрикса на всех уровнях его иерархической организации [2, 12, 29–33, 57]. Тем самым эти клетки одновременно контролируют обмен кальция между костью и кровью.

Возникновение в процессе филогенеза у остеоцитов таких контролирующих и регулирующих функций вызвано тем, что они инкорпорированы в лакунарно-канальцевую систему (ЛКС). В результате жизнеспособность остеоцитов зависит от конвекционного потока жидкости, обеспечивающего поступление к ним веществ и удаление шлаков. Производительность же конвекционного механизма определяется двумя факторами: деформируемостью костных структур и пропускной способностью ЛКС (поперечным сечением ее составных частей) [4, 17, 22, 61, 77]. Поэтому остеоциты имеют механосенсорные рецепторы, позволяющие им контролировать как величину деформаций костных структур, возникающих при циклических нагрузках на скелет [27], так и сдвиг

### Сведения об авторах:

*Аврунин Александр Самуэлевич* (e-mail: a\_avrunin@mail.ru),

Российский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р. Р. Вредена, 195427, Санкт-Петербург, ул. Акад. Байкова, 8

*Паршин Лев Константинович* (e-mail: kafedra@ksm.spbstu.ru), кафедра сопротивления материалов,

Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

напряжения потока жидкости в ЛКС [15, 49]. При отклонении значений механических сигналов за пределы физиологических порогов остециты осуществляют процесс механотрансдукции, переводя механические сигналы в химические [15, 27, 38, 39]. Другими словами, остециты могут не только ощущать изменения окружающей их механической среды, но и регулировать активность механизмов ее реорганизации в каждом локусе скелета [12, 28–31, 33, 78], обеспечивая, тем самым, с одной стороны, свои функционально-метаболические потребности, а с другой — поддержание гомеостатических параметров кальция в организме.

В контексте настоящей работы взаимосвязанное функционирование рассматриваемых метаболических систем предполагает, что механизмы обмена кальция организованы так же, как и механизмы перестройки архитектуры скелета — иерархически [4, 12, 33, 45, 77]. С учетом положений теории систем [5, 9], из этого следует, что ни один из известных механизмов обмена кальция, в том числе ООР, не может быть основным или второстепенным. На каждом иерархическом уровне организации скелета существует свой механизм его реорганизации [4] и каждый из этих механизмов, с одной стороны, меняет характеристики механометаболической среды, окружающей остециты, а с другой — поддерживает стабильность параметров кальциевого гомеостаза организма.

Цель настоящей работы — на основании результатов собственных исследований и данных литературы предложить иерархически организованную модель взаимосвязи морфологических механизмов с учетом биохимических основ обмена  $\text{Ca}^{2+}$  между костью и кровью.

*Элементы иерархической организации механизмов обмена  $\text{Ca}^{2+}$  между кровью и костью.* В настоящее время есть все основания утверждать, что существуют, как минимум, 3 иерархических уровня механизмов этого обмена. На первом, начальном, уровне обмен происходит на линии раздела кость–кровь, без разрушения костного матрикса, путем [54, 61, 69]: 1) энергонезависимой парацеллюлярной диффузии  $\text{Ca}^{2+}$  из крови в кость; 2) энергозависимого трансцеллюлярного перемещения  $\text{Ca}^{2+}$  из кости в кровь.

На втором уровне обмен  $\text{Ca}^{2+}$  обеспечивается механизмами остеоцитарного ремоделирования путем резорбции или формирования матрикса стенок ЛКС [1, 4, 22, 33]. Этот обмен происходит на линии раздела костный матрикс — внутрикостная межклеточная жидкость.

Третий иерархический уровень включает в себя механизмы ООР, действующие на линии раздела кость — кровь. Эти механизмы обеспечивают растворение минерального матрикса остеокластами и быструю минерализацию вновь отложенного остеобластами органического матрикса [4, 61].

В настоящее время известны и другие механизмы минерального обмена, включенные в эту иерархически организованную структуру [4], однако их роль в поддержке параметров гомеостаза кальция неотчетлива.

#### Первый иерархический уровень обмена $\text{Ca}^{2+}$

*Энергонезависимая парацеллюлярная диффузия  $\text{Ca}^{2+}$  из кровеносных сосудов в межклеточную жидкость кости* вызвана высоким градиентом концентрации кальция между плазмой крови и межклеточной жидкостью — 1,5 и 0,5 ммоль/л соответственно. Эта разница является движущей силой, определяющей кинетику пассивной, насыщаемой диффузии направленных потоков  $\text{Ca}^{2+}$  вдоль электрохимических и химических градиентов [8, 54, 67]. Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  первоначально поступают из кровеносных сосудов в окружающую их соединительную ткань и достигают слоя клеток, выстилающих кость (bone-lining cells). Между последними имеются пространства шириной около 2 нм. Эти заполненные микрофибриллами пространства пропускают ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , которые затем пересекают расположенный под слоем клеток остеоид толщиной 3–4 мкм и проникают через открытые каналцы в межклеточную жидкость ЛКС. Средняя плотность отверстий каналцев находится в пределах от 9,4 до 12,6 на 100 мкм<sup>2</sup> [55, 61, 68].

Биологическая целесообразность возникновения в процессе филогенеза упомянутых выше межклеточных пространств связана не только с необходимостью обеспечить свободную диффузию ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Данные пространства, по нашему мнению, выполняют еще одну важнейшую функцию, а именно, предохраняют клетки, выстилающие кость, от механической травмы, вызванной конвекционным потоком жидкости. Как известно, последние в ЛКС, возникающие под влиянием циклических механических нагрузок, в этой зоне проявляются попеременным выдавливанием и всасыванием жидкости через открытые каналцы ЛКС. Колебательные движения жидкости в зоне остеоида вызывают, в свою очередь, аналогичные изменения давления этой жидкости на слой клеток, выстилающих кость. Именно межклеточные пространства, по нашему мнению, обеспечивают свободное движение жидкости за пределы клеточ-

ного слоя, предотвращая, тем самым, механическую травму клеток и их отслоение от остеоида.

Суммируя изложенное выше, можно заключить, что структура между кровеносным сосудом и костной тканью, представляющая собой костно-гематический барьер [7] и имеющая высокую пропускную способность для ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в направлении из крови в кость, по сути, обеспечивает постоянную фильтрацию  $\text{Ca}^{2+}$  плазмы крови через костные образования. Подтверждением рассматриваемого феномена являются высокая скорость удаления радиоактивного  $\text{Ca}^{2+}$  из кровотока и инкорпорация данного остеотропного маркера в костную ткань.

*Выведение радиоактивного  $\text{Ca}^{2+}$  из кровотока* и его обмен с тканями организма детально исследованы [20, 58, 75, 40–42, 43]. Установлено, что инкорпорация в зрелые костные структуры скелета этого остеотропного маркера, введенного парентерально кроликам, в основном завершается через 1 ч после инъекции, а радиоактивность плазмы 10-кратно снижается в течение 24 ч. У собак большая часть изотопа фиксируется в этих структурах уже в течение первых 30 мин после инъекции [18].

Процесс удаления радиоактивного  $\text{Ca}^{2+}$  из кровотока описывается экспонентой [75]:

$$C(t) = A_1 e^{K_1 t} + A_2 e^{K_2 t} + A_3 e^{K_3 t}$$

где  $A_1 = 14,4 \pm 2\%$ ;  $A_2 = 3,51 \pm 4\%$ ;  $A_3 = 4,38 \pm 4\%$ ;  $K_1 = -2,0 \pm 2,5\%$ ;  $K_2 = -0,115 \pm 4\%$ ;  $K_3 = -0,006 \pm 5\%$ .

По мнению R. W. S. Tomlinson и соавт. [75], в этой формуле функция первой степени в основном детерминирована ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , первоначально выходящими через сосудистую стенку и уравновешивающимися с  $\text{Ca}^{2+}$  внескелетных тканей. После достижения балансового равновесия начинает доминировать более медленный обмен  $\text{Ca}^{2+}$  между кровью и костью. Каждый из этих периодов перераспределения ионов  $\text{Ca}^{2+}$  — результат активности многочисленных клеток, что и описывается приведенным статистическим распределением нелинейного типа [75].

Рассмотрим теперь, что происходит с  $\text{Ca}^{2+}$  после его диффузии из крови в межклеточную жидкость кости.

*Судьба  $\text{Ca}^{2+}$ , поступившего из кровотока в кость*, реализуется двумя путями: 1) ионы  $\text{Ca}^{2+}$  инкорпорируются в минеральный матрикс [66]; 2) ионы  $\text{Ca}^{2+}$  удаляются обратно в кровоток сетью костных клеток энергозависимым трансцеллюлярным путем [54].

Равновесие между этими двумя процессами контролируют остециты, а его нарушение проявляется специфическими структурными изменениями. Например, в случае локальной гибели

ли остецитов ионы  $\text{Ca}^{2+}$  перестают удаляться трансцеллюлярно обратно в кровоток, и поэтому начинает преобладать формирование нерастворимой фазы фосфата кальция. В результате минерал откладывается в канальцах и лакунах, которые перестают определяться микроскопически. Н. М. Frost назвал этот феномен «микропетроз» [48]. Противоположный вариант нарушения равновесия инициируется паратгормоном и проявляется резким расширением ЛКС с одновременной гипертрофией и гиперреактивностью остецитов [25].

*Основные морфологические типы инкорпорации  $\text{Ca}^{2+}$ , поступившего из кровотока в минеральный матрикс*, охарактеризованы автордиографически [65, 66]: 1) «горячие зоны», т. е. участки максимального накопления радиоактивного маркера в местах формирования остеонов; 2) диффузное распределение (у половозрелых животных после однократного введения радиоактивного изотопа кальция диффузный вариант включения в костный матрикс составляет половину от общей массы инкорпорированного элемента [65, 66]).

«Горячие зоны» возникают в участках формирования минерального матрикса новых остеонов с участием механизмов быстрой минерализации. В этих локусах отложенные радиоактивные ионы отчетливо видны и через 40 лет после их поступления в организм [65, 66]. Следовательно, эти зоны не являются резервуаром быстро обмениваемого кальция [44, 65, 66].

*Диффузное распределение*, по сути, является интегральной морфологической характеристикой включения радиоактивного  $\text{Ca}^{2+}$  в костный матрикс и формируется пространственным наложением нескольких морфологических типов распределения изотопа в костных структурах. При этом только часть из них можно дифференцировать автордиографически. В этом контексте крайне важно подчеркнуть, что количественная автордиография показала наибольший обмен кальция между кровью и поверхностными слоями кости, т. е. в зонах, непосредственно контактирующих с циркулирующими жидкостями: поднадкостничные, эндостальные и трабекулярные поверхности, а в пределах компактной кости — стенки полостей резорбции и каналов остеонов [65, 66]. К зонам наибольшего обмена кальция относятся также и стенки ЛКС, внимание к которым в последние годы прогрессивно нарастает [14, 46]. Резюмируя изложенное, можно утверждать, что диффузное распределение изотопа формируется наложением следующих зон интеграции  $\text{Ca}^{2+}$  в минеральный матрикс:

1) на границе каналов остеонов скопления радиоактивного маркера («ореолы» при автордиографии), в возникновении которых определенную роль играет также и направленная по градиенту концентрации диффузия  $\text{Ca}^{2+}$  [56];

2) поднадкостничные, эндостальные и трабекулярные поверхности;

3) стенки ЛКС;

4) глубоко расположенные минеральные структуры межклеточного матрикса. Этот процесс связан с действием механизмов медленной минерализации, которые необходимо рассматривать как один из элементов иерархической организации обмена кальция [4, 8].

*«Ореолы» гиперминерализации остеонов.* На основании наличия остеоида [44] и расположенного под ним участка с избирательным включением радиоактивного  $\text{Ca}^{2+}$  в минеральный матрикс, можно предположить, что клетки, выстилающие кость, контролируют этот процесс. Другими словами, с одной стороны, они «блокируют» формирование минеральных компонентов в структурах остеоида, а с другой — инициируют высокую обменную активность на поверхности минерального матрикса. Гипотетически контроль этих процессов может осуществляться клетками, в том числе путем изменения состава формируемого ими органического матрикса.

Подтверждением этой гипотезы являются данные R. T. Ingram и соавт. [51], согласно которым остеокальцин, секретлируемый остеообластами и имеющий высокую аффинность к кальцию и гидроксиапатиту, избирательно включается в состав зон раздела. Авторы иммуногистохимически показали, что у части нормальных добровольцев присутствие остеокальцина имеет избирательный характер. Его концентрация выше в зонах, возникающих в периоды прекращения активного отложения матрикса остеообластами [51].

Формирование участков повышенной адгезии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на поднадкостничных, эндостальных и трабекулярных поверхностях, по нашему мнению, также находятся под контролем клеток, выстилающих кость, т. е. описанный выше механизм формирования «ореола» может играть аналогичную роль в формировании зон обмена на этих поверхностях.

*Обмен кальция между стенками ЛКС и межклеточной жидкостью.* Структура этих стенок отличается от смежных участков межклеточного матрикса менее плотной организацией. Кроме того, коллагеновые волокна в этой зоне тоньше и имеют иную ориентацию [23, 62]. Показано, что контроль метаболизма кальция в области стенок ЛКС осуществляют остеоциты, в том числе, через

синтез молекул DMP1 (dentin matrix protein 1), MEPE (matrix — extracellular phosphoglycoprotein) и ASARM (acidic, serine- and aspartic acid-rich motif), облицовывающих эти стенки. ASARM (ингибитор минерализации) является продуктом расщепления MEPE [14, 46]. DMP1, синтезируемый остеоцитами под влиянием механических нагрузок, наоборот, вызывает минерализацию в той же самой зоне. Этот богатый серином кислый белок имеет многочисленные участки потенциального фосфорилирования, что и позволяет ему инициировать формирование минерала [46].

По нашему мнению, данная зона обеспечивает еще одну физиологически важную функцию — затрудняет миграцию ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в глубокие участки межклеточного матрикса, предотвращая его быструю гиперминерализацию, ведущую соответственно к необратимому снижению деформируемости костной ткани под действием механической нагрузки. Это, вызывая снижение производительности конвекционного механизма, ухудшает, тем самым, метаболические условия среды, окружающей остеоциты. Затруднение диффузии  $\text{Ca}^{2+}$  в глубокие участки обеспечивается высокой аффинностью элементов, образующих стенки ЛКС, к этому иону.

*Инкорпорация ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в костный матрикс между канальцами* после его диффузии возможна путем включения [6]: 1) в дефекты кристаллической решетки ранее сформированных минералов; 2) в состав растущих минералов, что ведет к увеличению минерализации матрикса до максимально возможного уровня — почти 95% [19].

*Энергозависимое трансцеллюлярное движение  $\text{Ca}^{2+}$  из кости в кровеносные сосуды* происходит против электрохимических и химических градиентов и обеспечивается сетью костных клеток [54, 68, 77]. Остеоциты поглощают  $\text{Ca}^{2+}$  из межклеточной жидкости и транспортируют его через щелевые соединения в направлении клеток, выстилающих кость [54, 60]. Последние выделяют ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в межклеточное пространство на границе с кровеносными сосудами, создавая, тем самым, условия для поступления этих ионов в систему кровообращения. Другими словами, сеть костных клеток имеет энергозависимую систему транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  со специфической полярностью. Одним из экспериментальных доказательств правомочности данной схемы является подавление *in vitro* транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  цианидами, а также отсутствие его в кости с мертвыми клетками [54].

Согласно результатам морфологических исследований, в основе описанной выше полярности трансцеллюлярного движения  $\text{Ca}^{2+}$  лежат особенности структурной организации сети кост-

ных клеток. В первую очередь, это асимметричное расположение цитоплазматических отростков остеоцитов. С сосудистой стороны отростки, направленные к остеобластам и контактирующие с ними, более многочисленны, намного длиннее и тоньше, чем идущие в противоположную сторону [31, 55, 60]. Эта структурная асимметрия сопровождается функциональной асимметрией. Показано, что в ответ на механическую нагрузку движение  $\text{Ca}^{2+}$  от остеоцитов к остеобластам более выражено, чем в противоположном направлении. Данный тип асимметричной коммуникации позволяет предположить, что функциональная адаптация костных клеток хорошо скоординирована на морфологической основе [11–13, 31]. Способность перекачивать  $\text{Ca}^{2+}$  против большего градиента его концентрации обеспечивают механизмы, связанные с деятельностью  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы [72].

Поглощенный клеткой  $\text{Ca}^{2+}$  в дальнейшем или возвращается в экстрацеллюлярную среду, или хранится интрацеллюлярно в органеллах [50, 70, 72]. Используя электронную спектроскопию и масс-спектрометрию, С. Bordat и соавт. [35] показали *in vitro*, что увеличение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле ведет к его накоплению в митохондриях и формированию окруженных отложениями кальция соединений между митохондриями и эндоплазматической сетью. Концентрация кальция в клетке в этих условиях составляет около 100 ммоль/кг сухой массы клеток [35].

#### Второй иерархический уровень обмена $\text{Ca}^{2+}$

На этом уровне, как отмечено выше, обмен кальция связан с остеоцитарным ремоделированием.

*Фаза растворения минерала стенок ЛКС.* Процесс инициируют органические кислоты (лимонная, молочная и др.), выделяемые остеоцитами. Под их влиянием происходит локальный сдвиг рН межклеточной жидкости в кислую сторону, что ведет к повышению растворимости солей кальция [23, 24, 36, 37, 59, 63, 64]. Секреция этих кислот увеличивается, в том числе под влиянием паратгормона, одного из системных регуляторов обмена этого элемента [59, 69]. Сдвиг метаболической активности остеоцитов под действием паратгормона запускает метаболический каскад, элементами которого являются увеличение выделения клетками органических кислот и растворение минерала стенок ЛКС. Соответственно растет поперечное сечение составных элементов этой системы полостей и повышается их пропускная способность для конвекционного потока жидкости. В результате увеличиваются и поступление

к остеоцитам продуктов питания, и удаление шлаков. Одновременно эти клетки, удаляя избыток  $\text{Ca}^{2+}$  из межклеточной жидкости и транспортируя его трансцеллюлярно в кровоток, участвуют в регуляции обмена кальция.

*Фаза формирования стенок ЛКС* исследована с использованием иммунохимических, цитохимических и генетических методов и в результате установлено, что остеоциты продуцируют коллаген I типа, фибронектин, остеопонтин, остео-нектин, остеокальцин, костный сиалопротеин, витронектин, тромбоспондин, дентин матриксный кислый фосфопротеин I, костные морфогенные белки 2 и 4, матриксный экстрацеллюлярный фосфогликопротеин и фибриллины-1 и -2, а также другие компоненты матрикса [10, 16, 33, 34, 47, 53]. Взаимодействие этих молекул, происходящее экстрацеллюлярно, приводит к формированию органического матрикса на стенках ЛКС [23, 62], который в последующем минерализуется [14, 46], образуя зону повышенного обмена кальция.

#### Третий иерархический уровень обмена кальция

**ООР** представляет собой механизм обмена кальция третьего уровня и обеспечивает разрушение или формирование микроколичеств костной ткани на линии раздела кость — кровь. Как отмечено выше, и в настоящее время продолжают доминировать представления, что именно выделившиеся в процессе резорбции ионы  $\text{Ca}^{2+}$  поступают в кровоток и играют ведущую роль в поддержании параметров гомеостаза [58, 73].

*Остеокластная резорбция.* В контексте настоящей работы необходимо отметить, что резорбция костного матрикса остеокластами происходит в зоне герметично закрытого компартмента, формирующегося прикреплением интегринов  $\alpha_v\beta_3$  плазмолеммы клетки к матриксу кости [74]. Выделяющиеся при этом протоны подкисляют среду в эрозионной лакуне, инициируя растворение минерала. В целом, механизмы ионного обмена остеокластов обеспечивают электрохимический баланс клетки во время резорбции. Этот баланс достигается скоординированной деятельностью ионных насосов, ионных каналов и нейтральных ионообменников, поддерживающих рН цитоплазмы и трансмембранный электрический потенциал в узком физиологическом диапазоне [21].

Используя сканирующую электронно-химическую микроскопию, С.Е.М. Berger и соавт. [26] установили, что резорбтивная активность остеокласта продолжается, несмотря на присутствие чрезвычайно высокого содержания  $\text{Ca}^{2+}$  в пределах эрозионной лакуны. Исследования в

режиме реального времени показали, что остеокласт действует как трубопровод для непрерывного освобождения  $\text{Ca}^{2+}$ , концентрация которого в эрозивной лакуне составляет менее 2 ммоль. Увеличение содержания  $\text{Ca}^{2+}$  в среде, окружающей клетку вне лакуны, регулирует ее резорбтивную активность по принципу отрицательной обратной связи [26].

Как же в описанную выше систему направленной миграции ионов  $\text{Ca}^{2+}$  вдоль электрохимических и химических градиентов включаются ионы, выделившиеся в результате резорбции остеокластами костных структур? По нашему мнению, существуют 2 варианта их направленной диффузии. Первый реализуется, когда концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  над остеокластом превышает ее значения в крови. В этих условиях ионы диффундируют в направлении кровеносных сосудов. Если же концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  ниже, то он включается в потоки ионов,двигающихся от кровеносных сосудов в направлении кости. По-видимому, в условиях *in vivo* имеют место оба варианта, но роль каждого из них требует дальнейших исследований. Кроме того, нельзя исключить существование в зоне между сосудистой стенкой и клетками, покрывающими кость, гипотетического энергозависимого механизма переноса ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в направлении кровотока.

Описанная выше иерархически организованная система механизмов обмена кальция между костью и кровью позволяет теоретически обоснованно рассчитать массу кальция, находящегося в состоянии постоянного обмена между костью и кровью в организме человека.

Масса обменного пула кальция ранее была рассчитана R.E. Rowland [66] на основании данных авторадииграфии. Автор исходил из того, что у человека глубина обменного слоя составляет около 200 нм, а площадь поверхности каналов остеонов и питающих каналов совместно —  $3 \text{ м}^2$  и трабекул —  $9 \text{ м}^2$  [77]. На основании этих данных, расчетная масса обменного кальция находится в диапазоне 5–6,5 г [66]. Однако автор не учитывал площадь поверхности ЛКС, которая в скелете взрослого мужчины достигает  $1200 \text{ м}^2$  [77].

При проведении вычислений мы исходили из факта, что суммарная площадь каналов остеонов и питающих каналов, трабекул и ЛКС составляет  $1212 \text{ м}^2$  или  $1212 \times 10^4 \text{ см}^2$ . Используя данные о глубине обменного слоя, представленные R. E. Rowland [66] (200 нм или  $2 \times 10^{-5} \text{ см}$ ), получили, что объем костного матрикса, в котором кальций находится в состоянии постоянного обмена, составляет:  $1212 \times 10^4 \text{ см}^2 \times 2 \times 10^{-5} \text{ см} = 242,4 \text{ см}^3$ . При дальнейшем расчете мы исходили из того,

что масса костной ткани компактного вещества определяется приблизительно на 70% минералом (гидроксиапатит), 22% белками (90% коллаген I типа) и 8% воды. По объему минеральная и органическая фазы занимают по 40%, остальной объем занимает вода [76]. Следовательно, объем минерала равняется:  $242,4 \text{ см}^3 \times 0,4 = 97,0 \text{ см}^3$ .

По нашему мнению, в зоне постоянного обмена структура минерального компонента ближе к аморфному фосфату кальция, т. е.  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  — дикальцийфосфат дигидрат (брушит) с удельной массой  $2,32 \text{ г/см}^3$  [6]. Отсюда масса минерала составляет:  $97 \text{ см}^3 \times 2,32 \text{ г/см}^3 = 225,04 \text{ г}$ , а доля кальция в ней согласно формуле:  $41/157 \times 100 = 26\%$ . Это позволяет рассчитать массу быстро обмениваемого кальция:  $225,04 \text{ г} \times 0,26 = 58,5 \text{ г}$ . Полученная нами величина более чем в 11 раз выше, чем представлено в литературе [66]. В этой связи необходимо отметить, что чем больше кальция находится в состоянии обмена, тем выше устойчивость этой обменной системы, а значит стабильность параметров кальциевого гомеостаза.

Таким образом, в настоящей работе показано, что остециты, контролируя пространственно-временную активность большинства известных механизмов перестройки архитектуры скелета (ООР, моделирование, остеоцитарное ремоделирование и др.), т. е. разрушение и формирование минерального матрикса, тем самым осуществляют контроль обмена кальция между костью и кровью. Механизмы этого обмена имеют не только иерархическую организацию, но и разъединены пространственно:

*первый уровень* — обмен происходит на линии раздела между костью и кровью, без разрушения костного матрикса, путем энергонезависимой парацеллюлярной диффузии  $\text{Ca}^{2+}$  из крови в кость и энергозависимого трансцеллюлярного перемещения  $\text{Ca}^{2+}$  из кости в кровь;

*второй уровень* — обмен  $\text{Ca}^{2+}$  происходит на линии раздела костный матрикс — межклеточная жидкость путем остеоцитарного ремоделирования при резорбции или формировании матрикса стенок ЛКС;

*третий уровень* — включает в себя механизмы ООР, действующие на линии раздела кость — кровь путем резорбции костного матрикса остеокластами и его отложения остеобластами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аврунин А. С. и Тихилов Р. М. Остеоцитарное ремоделирование костной ткани: история вопроса, морфологические маркеры. Морфология, 2011, т. 139, вып. 1, с. 86–94.
2. Аврунин А. С., Тихилов Р. М., Аболин А. Б. и Щербак И. Г. Уровни организации минерального матрикса костной ткани и механизмы, определяющие параметры их формирования

- (аналитический обзор). *Морфология*, 2005, т. 127, вып. 2, с. 78–82.
3. 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.
  4. Аврунин А. С., Тихилов Р. М., Шубняков И. И. и др. Критический анализ теории механостата. Часть I. Механизмы реорганизации архитектуры скелета. *Травматол. ортопед. России*, 2012, № 2, с. 105–115.
  5. Берталанфи Л. Общая теория систем — критический обзор. В кн.: *Исследования по общей теории систем*. М., Прогресс, 1969, с. 23–82.
  6. Данильченко С. Н. Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения. *Вісн. СумДУ. Серія фізика, математика, механіка*, 2007, № 2, с. 33–59.
  7. Корнилов Н. В. и Аврунин А. С. *Адаптационные процессы в органах скелета*. СПб., МОРСАР АВ, 2001.
  8. Ньюмен У. и Ньюмен М. *Минеральный обмен кости*. М., Изд-во иностр. лит-ры, 1961.
  9. Эшби У. Р. *Конструкция мозга*. М., Мир, 1962.
  10. 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.
  11. Adachi T., Aonuma Y., Ito S. et al. Osteocyte calcium signaling response to bone matrix deformation. *J. Biomech.*, 2009, v. 42, p. 2507–2512.
  12. Adachi T., Aonuma Y., Taira K. et al. Asymmetric intercellular communication between bone cells: propagation of the calcium signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009, v. 389, p. 495–500.
  13. Adachi T., Aonuma Y., Tanaka M. et al. Calcium response in single osteocytes to locally applied mechanical stimulus: Differences in cell process and cell body. *J. Biomech.*, 2009, v. 42, p. 1989–1995.
  14. Addison W. N., Nakano Y., Loisel T. et al. MEPE-ASARM peptides control extracellular matrix mineralization by binding to hydroxyapatite: an inhibition regulated by plex cleavage of as arm. *J. Bone Miner. Res.*, 2008, v. 23, № 10, p. 1638–1649.
  15. Ajubi N. E., Klein-Nulend J., Nijweide P. J. et al. Pulsating fluid flow increases prostaglandin production by cultured chicken osteocytes-A cytoskeleton-dependent process. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, v. 225, № 1131, p. 62–68.
  16. 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, № 116 p. 1095–1104.
  17. Anderson E. J. and Knothe Tate M. L. Idealization of pericellular fluid space geometry and dimension results in a profound underprediction of nano-microscale stresses imparted by fluid drag on osteocytes. *J. Biomech.*, 2008, v. 41, p. 1736–1746.
  18. Arnold J. S., Jee W. S. S. and Johnson K. Observations and quantitative radioautographic studies of calcium<sup>48</sup> deposited in vivo in forming haveesian systems and old bone of rabbit. *Am. J. Anat.*, 1956, v. 99, № 2, p. 291–313.
  19. Ascenzi A., Bonucci E. and Bocciairelli D. S. An electron microscope stud on primary periosteal bone. *J. Ultrastr. Res.*, 1967, v. 18, p. 605–618.
  20. Aubert J.-P., Bronner F. and Richelle L. J. Quantitation of calcium metabolism. *Theory. J. Clin. Invest.*, 1963, v. 42, № 6, p. 885–897.
  21. Baron R. Molecular mechanisms of bone resorption. *Acta Orthop. Scand.*, 1995, v. 66, Suppl. 266, p. 66–70.
  22. Baud C. A. Morphologie et structure inframicroscopique des osteocytes. *Acta anat.*, 1962, v. 51, № 3, p. 209–225.
  23. Baud C. A. Submicroscopic structure and functional aspects of the osteocyte. *Clin. Orthop.*, 1968, № 56, p. 227–236.
  24. Baud C. A. and Auil E. Osteocyte differential count in normal human alveolar bone. *Acta Anat.*, 1971, v. 78, p. 321–327.
  25. Belanger L. F. and Robichon J. Parathormone-induced osteolysis in dogs. A Microradiographic and alphanradiographic survey. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1964, v. 46, p. 1008–1012.
  26. Berger C. E. M., Rathod H., Gillespie J. I. et al. Scanning electrochemical microscopy at the surface of bone-resorbing osteoclasts: evidence for steady-state disposal and intracellular functional compartmentalization of calcium. *J. Bone Miner. Res.*, 2001, v. 16, № 11, p. 2092–2102.
  27. Bershadsky A. D., Balaban N. Q. and Geiger B. Adhesion-dependent cell mechanosensitivity. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2003, v. 19, p. 677–995.
  28. Bonewald L. F. Establishment and characterization of an osteocyte-like cell line, MLO-Y4. *J. Bone Miner. Metab.*, 1999, v. 17, p. 61–65.
  29. Bonewald L. F. Osteocytes: A proposed multifunctional bone cell. *J. Musculoskelet Neuronal Interact.*, 2002, v. 2, № 3, p. 239–241.
  30. Bonewald L. F. Osteocyte biology: Its implications for osteoporosis. *J. Musculoskelet Neuronal Interact.*, 2004, v. 4, № 1, p. 101–104.
  31. Bonewald L. F. Generation and function of osteocyte dendritic processes. *J. Musculoskelet Neuronal Interact.*, 2005, v. 5, № 4, p. 321–324.
  32. Bonewald L. F. Osteocytes and mechanotransduction. *J. Musculoskelet Neuronal Interact.*, 2005, v. 5, № 4, p. 333–334.
  33. Bonewald L. F. The amazing osteocyte. *J. Bone Miner. Res.*, 2011, v. 26, № 2, p. 229–238.
  34. Bonewald L. F. and Johnson M. L. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone*, 2008, v. 42, p. 606–615.
  35. Bordat C., Guerquin-Kern J.-L., Lieberherr M. and Cournot G. Direct visualization of intracellular calcium in rat osteoblasts by energy-filtering transmission electron microscopy. *Histochem. Cell Biol.*, 2004, v. 121, p. 31–38.
  36. Borle A. B., Nichols N. and Nichols G. Metabolic studies of bone in vitro II. The metabolic patterns of accretion and resorption. *J. Biol. Chem.*, 1960, v. 235, № 4, p. 1211–1214.
  37. Borle A. B., Nichols N. and Nichols G. Metabolic studies of bone in vitro I. Normal bone. *J. Biol. Chem.*, 1960, v. 235, № 4, p. 1226–1230.
  38. Bretscher A., Edwards K. and Fehon R. G. ERM proteins and merlin: integrators at the cell cortex. *Mol. Cell Biol.*, 2002, v. 3, p. 586–599.
  39. Brighton C. T., Fisher J. R. S., Levine S. E. et al. The biochemical pathway mediating the proliferative response of bone cells to a mechanical stimulus. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1996, v. 78, № 9, p. 1337–1347.

40. Bronner F. and Aubert J.-P. Bone metabolism and regulation of the blood calcium level in rats. *Am. J. Physiol.*, 1965, v. 209, № 5, p. 887–890.
41. Bronner F., Harris R. S., Maletskos C. J. and Benda C. E. Studies in calcium metabolism. The fate of intravenously injected radio-calcium in human beings. *J. Clin. Invest.*, 1956, v. 35, p. 78–88.
42. Bronner F. and Lemaiké R. Comparison of calcium kinetics in man and the rat. *Calcit. Tissue Res.*, 1969, v. 3, p. 238–248.
43. Bronner F., Richellef L. J., Saville P. D. et al. Quantitation of calcium metabolism in postmenopausal osteoporosis and in scoliosis. *J. Clin. Invest.*, 1963, v. 42, № 6, p. 898–905.
44. Cooper R. R., Milgram J. W. and Robinson R. A. Morphology of the osteon. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1966, v. 48, № 7, p. 1239–1271.
45. Feng J. Q., Ward L. M., Liu S. et al. Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. *Nat. Genet.*, 2006, v. 38, № 11, p. 1310–1315.
46. Feng J. Q., Ye L. and Schiavi S. Do osteocytes contribute to phosphate homeostasis? *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2009, v. 18 p. 285–291.
47. 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.
48. Frost H. M. Micropetrosis. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 1960, v. 42, № 1, p. 144–150.
49. Goulet G. C., Cooper D. M. L., Coombe D. and Zernicke R. F. Influence of cortical canal architecture on lacunocanalicular pore pressure and fluid flow. *Comput. Methods Biomech. Biomed. Engin.*, 2008, v. 11, № 4, p. 379–387.
50. Halstead B. L. Are mitochondria directly involved in biological mineralisation? The mitochondrion and the origin of bone. *Calc. Tissue Res.*, 1969, v. 3, p. 103–104.
51. Ingram R. T., Yong-Koo Park, Clarke B. L. and Fitzpatrick L. A. Age- and gender-related changes in the distribution of osteocalcin in the extracellular matrix of normal male and female bone. Possible involvement of osteocalcin in bone remodeling. *J. Clin. Invest.*, 1994, v. 93, p. 989–997.
52. Jowsey J., and Riggs B. L. Mineral metabolism in osteocytes. *Mayo Clin. Proc.*, 1964, v. 39, № 7, p. 480–484.
53. 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.
54. Marenzana M., Shipley A. M., Squitiero P. et al. Bone as an ion exchange organ: Evidence for instantaneous cell-dependent calcium efflux from bone not due to resorption. *Bone*, 2005, v. 37, p. 545–554.
55. Marotti G., Ferretti M., Muglia M. A. et al. A quantitative evaluation of osteoblast-osteocyte on growing endosteal surface of rabbit tibiae. *Bone*, 1992, v. 13, p. 363–368.
56. Martin B. Mathematical model for the mineralization of bone. *J. Orthop. Res.*, 1994, v. 12 № 3, p. 375–383.
57. Martin R. B. Toward a unifying theory of bone remodeling. *Bone*, 2000, v. 26, № 1, p. 1–6.
58. Neuman W. F., Terepka A. R., Canas P. and Triffitt J. T. The cycling concept of exchange in bone. *Calc. Tissue Res.*, 1968, v. 2, p. 262–270.
59. Nichols G. and Rogers P. Mechanisms for the transfer of calcium into and out of the skeleton. *Pediatrics*, 1971, v. 47, № 1, Part II, p. 211–228.
60. Palumbo C., Palazzini S., Zaffe D. and Marotti G. Osteocyte differentiation in the tibia of newborn rabbit: an ultrastructural study of the formation of cytoplasmic processes. *Acta Anat.*, 1990, v. 137, p. 350–358.
61. Parfitt A. M. Progress in endocrinology and metabolism. The actions of parathyroid hormone on bone: relation to bone remodeling and turnover, calcium homeostasis, and metabolic bone disease. Part I of IV Parts: mechanisms of calcium transfer between blood and bone and their cellular basis: morphological and kinetic approaches to bone turnover. *Metabolism*, 1976, v. 25, № 7, p. 809–844.
62. Reilly G. C., Knapp H. F., Stemmer A. et al. Investigation of the morphology of the lacunocanalicular system of cortical bone using atomic force microscopy. *Ann. Biomed. Eng.*, 2001, v. 29, p. 1074–1081.
63. Remagen W., Caesar R. and Heuck F. Elektronenmikroskopische und mikroradiographische Befunde am Knochen der mit Dihydroxyachysterin behandelten Ratten. *Virch. Arch. Abt. A. Path. Anat.*, 1968, Bd. 345, S. 245–254.
64. Remagen W., Hohling H. J. and Hall T. A. Electron microscopical and microprobe observations on the cell sheath of stimulated osteocytes. *Calc. Tissue Res.*, 1969, v. 4, p. 60–68.
65. Rowland R. E. The deposition and the removal of radium in bone by a long-term exchange process. *Clin. Orthopaed.*, 1960, № 17, p. 146–153.
66. Rowland R. E. Exchangeable bone calcium. *Clin. Orthopaed.*, 1966, № 49, p. 233–248.
67. Rubinacci A., Covini M., Bisogni C. et al. Bone as an ion exchange system: evidence for a link between mechanotransduction and metabolic needs. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2002, v. 282, p. E851–E864.
68. Scarpace P. J. and Neuman W. F. The blood: bone disequilibrium. II. Evidence against the active accumulation of calcium or phosphate into the bone extracellular fluid. *Calc. Tissue Res.*, 1976, v. 20, p. 151–158.
69. Schartum S. and Nichols G. Calcium metabolism of bone in vitro. Influence of bone cellular metabolism and parathyroid hormone. *J. Clin. Invest.*, 1961, v. 40, № 11, p. 2083–2091.
70. Shapiro I. M. and Greenspan J. S. Are mitochondria directly involved in biological mineralisation. *Calc. Tissue Res.*, 1969, v. 3, 100–102.
71. Staub, J. F., Tracqui P., Brezillon P. et al. Calcium metabolism in the rat: a temporal self-organized model. *Am. J. Physiol.*, 1988, v. 254, p. R134–R149.
72. Strehler E. E. and Treiman M. Calcium pumps of plasma membrane and cell interior. *Curr. Molecular Medicine*, 2004, v. 4, p. 323–335.
73. Talmage R. V. A study of the effect of parathyroid hormone on bone remodeling and on calcium homeostasis. *Clin. Orthopaed.*, 1967, № 54, p. 163–173.
74. Tanaka Y., Nakayamada S. and Okada Y. Osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling and inflammation current drug targets. *Inflammation and Allergy*, 2005, v. 4, p. 325–328.
75. Tomlinson R. W. S., Wall M., Osborn S. B. and Anderson J. Radiocalcium studies in normal subjects. *Calc. Tissue Res.*, 1967, v. 1, p. 197–203.
76. Wang X. and Puram S. The toughness of cortical bone and its relationship with age. *Ann. Biomed. Eng.*, 2004, v. 32, № 1, p. 123–135.



77. Whitfield J. F. Primary cilium — is it an osteocyte's strain-sensing flowmeter? *J. Cell. Biochem.*, 2003, v. 89, p. 233–237.
78. Yang W., Kalajzic I., Lu Y. et al. *In vitro* and *in vivo* study on osteocyte-specific mechanical signaling pathways. *J. Musculoskelet Neuronal Interact.*, 2004, v. 4, № 4, p. 386–387.

Поступила в редакцию 07.09.2012

#### **HIERARCHICALLY ORGANIZED MODEL OF INTERCONNECTED CELLULAR AND TISSUE MECHANISMS OF CALCIUM EXCHANGE BETWEEN BONE AND BLOOD**

*A. S. Avrunin and L. K. Parshin*

The objective of this study was to propose, on the basis of the results of authors' own research and literature data, the hierarchically organized model of the interrelation of morphological mechanisms with the participation of biochemical bases of  $\text{Ca}^{2+}$  exchange between bone and blood. It is shown that osteocytes control the activity of main known mechanism of skeleton architecture remodeling (osteoclast-osteoblast remodeling, modeling,

osteocyte remodeling etc.), that is the destruction and formation of mineral matrix component, thus influencing calcium turnover between bone and blood. The hierarchical organization of the mechanisms of this exchange is established. The first level of  $\text{Ca}^{2+}$  metabolism corresponds to the borderline between bone and takes place without bone matrix disintegration by paracellular energy-free  $\text{Ca}^{2+}$  diffusion from blood to bone and transcellular energy-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  transfer from bone to blood. At the second level, calcium exchanger takes place at the borderline between bone matrix and extracellular fluid by osteocyte remodeling during resorption or formation of the matrix of lacunar-canalicular system walls. The third level includes the mechanisms of osteoclast-osteoblast remodeling acting at the borderline between bone and blood. The mass of rapidly exchanging calcium pool was calculated to reach 58,5 g, thus being 11 times higher than previously suggested.

**Key words:** *osseous tissue, osteocytes, osteoclasts, osteoblasts, calcium metabolism*

Russian R. R. Vreden Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Department of Strength of Materials, St. Petersburg State Polytechnical University