

УДК 591.471.36/37 : 598.1

## РАЗВИТИЕ И СТРУКТУРА ДЛИННЫХ КОСТЕЙ СКЕЛЕТА РЕПТИЛИЙ

Е. И. Домашевская, Н. В. Золотова-Гайдамака

*Институт зоологии НАН Украины, ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев-30, ГСП, 01601 Украина*

Получено 16 февраля 2001

**Развитие и структура длинных костей скелета рептилий.** Домашевская Е. И., Золотова-Гайдамака Н. В. — На основании оригинальных исследований рассмотрено формирование костной ткани длинных костей конечностей. Описаны ее развитие, строение и функциональные особенности у различных представителей рептилий (ящериц и черепах) отличающихся образом жизни, темпами и продолжительностью роста костного скелета, массивностью скелетных звеньев. Установлены основные факторы, определяющие структурное состояние кости у разных позвоночных, а также особенности ее строения в различные периоды индивидуальной жизни. У рептилий компактный слой длинной кости формируется благодаря образованиям пластинчатогубчатой системы в виде ячеек. Кроме того, у рептилий впервые параллельно с энхондральной оксификацией нами отмечено интрамембранное образование костной ткани.

Ключевые слова: остеогенез, остеобласт, остеокласт, костная пластинка, оксификация.

**Development and Structure of the Long Bones of Skeleton in Reptilia.** Domashevskay E. I., Zolotova-Haydamaka N. V. — Based on original researches, formation of bone tissue in long bones of extremities is considered. The development, structure and functional features are described for Reptilia, (lizards and turtles) which are different in bionomics, duration of growth of skeleton, and mass of skeletal parts. Major factors determining structural condition of a bone in different vertebrates, and also features of organization in various periods of individual life are established. The compact layer in the long bone of some Reptilia is formed due to formations of the lamelli-spongiose system as cells. The intramembranal ossification along with the enchondral ossification is recorded in Reptilia for the first time.

Key words: osteogenesis, osteoblast, osteoclast, bony plate, ossification.

При разделении наземных позвоночных на систематические группы важная роль принадлежит различиям в строении костей скелета. Большое значение также имеют структура и свойства костной ткани, ее пластичность, способность к структурным адаптациям в соответствии с образом жизни животного.

Существует версия А. В. Румянцева (1958) о наличии связи между особенностями микроскопического строения компактной кости и систематическим положением животных, их видовыми, родовыми, семейственными и отрядными отличиями, однако вопрос нельзя считать решенным ввиду его малой разработанности.

Недостаточно ясен и другой вопрос — об особенностях структуры костей в связи с характером их локомоторных функций (Ertelt, 1957; Безносенко, 1955 и др.).

Даже теперь неизвестно, развиваются ли у животных, родственных и отдаленных по происхождению групп, при сходных условиях функции костей, сходные морфологические особенности строения последних. До настоящего времени не выяснена связь отдельных морфологических признаков костного вещества и его функциональной значимости.

В литературе имеются данные о различных системах локомоторного аппарата млекопитающих, в том числе у рептилий (Домашевская, 1985, 1986; Мажуга, Домашевская, 1990; Мажуга и др., 1993). Однако в изученной нами литературе не найдены работы, посвященные развитию и микроскопическому строению длинных костей скелета рептилий. Целью настоящей работы явилось исследование особенностей развития и строения длинных костей у представителей некоторых рептилий.

### Материал и методы

Нами изучены некоторые особенности развития и структуры плечевых и бедренных костей у представителей рептилий (*Lacerta agilis* Linnaeus, *L. vivipara* Jacquin, *Tenuidactylus caspius caspius* (Eichwald), *Mauremis caspica* (Gmelin), *Pseudemys scripta* (Schoepff) — однодневная и взрослые осо-

би). Отбирались виды, которые отличаются по способу жизни, размерам тела, скорости роста и массивности костного скелета как в раннем, так и в позднем постнатальном онтогенезе.

Для гистологического исследования у животных вычленили плечевые и бедренные конечности, которые потом фиксировали в 10,6%-ном нейтральном формалине и использовали для приготовления гистологических срезов. Гистопрепараты окрашивали гематоксилин-эозином по Майеру и Делафильду, докрашивали тионином.

С ростом кости непрерывно связано формирование определенных костных структур в поперечном направлении, определяющем как величину наружных поперечных размеров диафиза, так и общую толщину компактного слоя. Для этого изучали структуру и определяли размеры компактного вещества на поперечных сколах кости, проходящих точно через середину диафиза плечевой, бедренной костей.

Относительная толщина компактного слоя (стенки диафизарной трубки) у различных видов рептилий точнее всего определяется показателем, который отражает отношение площади поперечного сечения компактного вещества к поперечному сечению диафиза всей кости.

Толщину стенки трубчатой кости вычисляли по показателю, который представляет собой отношение площадей сечения костномозгового канала к площади поперечного сечения диафиза кости:  $S = S_1 / (S_1 + S_2)$ , где  $S_1$  — площадь сечения диафиза кости;  $S_2$  — площадь сечения костномозгового канала.

Для растровой электронной микроскопии образцы кости после фиксации в 2,5%-ном глутаральдегиде и обезвоживания напыляли графитом (или золотом). Образцы просматривались в электронном микроскопе «Тесла БС-301».

## Результаты и обсуждение

На начальных стадиях образование костных структур бедренных и плечевых костей на основе хрящевого предшественника у ящериц и черепах происходит за счет надкостницы. При периостальном остеогенезе осуществляется последовательное наслоение грубоволокнистой костной ткани на поверхности в формирующейся костной трубке. Функциональная активность остеогенных клеток, как и аппозиционный рост кости, наиболее выражены у рептилий только в весенне-летний сезоны.

Когда резорбция хряща достигает зон метафизов (рис. 1), происходят следующие процессы: 1) по всему внутреннему периметру костной трубки формируются клеточные скопления, которые состоят преимущественно из гранулоцитов; здесь же в прямом контакте с резорбирующимся хрящем выявляются большие многоядерные класические клетки (хондрокласты), а также одноядерные

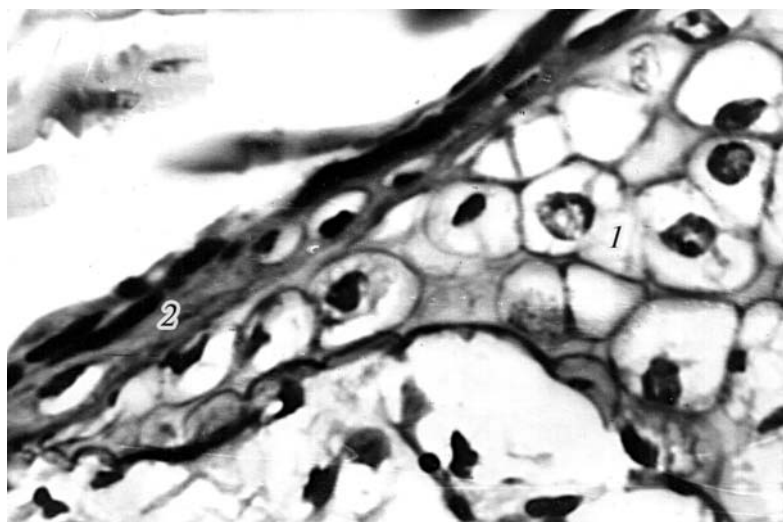


Рис. 1. Резорбция в зоне метафиза бедренной кости *Lacerta agilis*: 1 — хрящевой стержень; 2 — стенка костной трубки (гематоксилин-тионин-эозин,  $\times 280$ ).

Fig. 1. The resorption in zone of metaphysis femur of *Lacerta agilis*: 1 — cartilaginous pivot; 2 — wall of bony tube (hematoxylin-thionin-eosin,  $\times 280$ ).

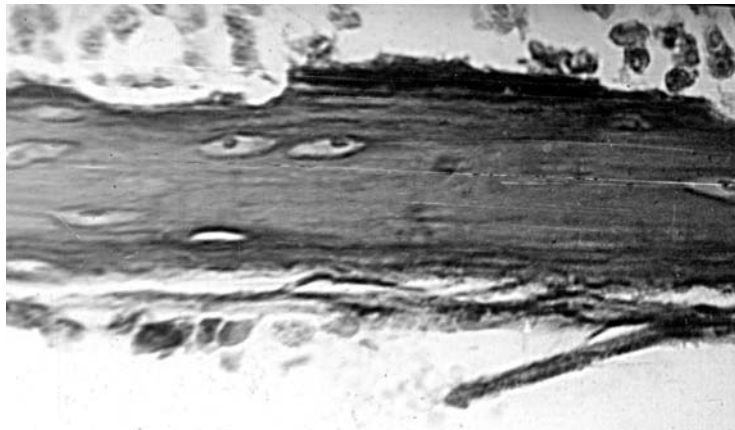


Рис. 2. Компакта диафизарной трубки состоит из грубоволокнистой костной ткани без остеонных структур (гематоксилин-эозин,  $\times 280$ )

Fig. 2. The compacta of diaphyza tube consist of the coarse-fibered bony tissue, which have not osteon structure (hematoxylin-eosin,  $\times 280$ ).

моноциты и фибробласты; 2) на внутренней поверхности костной трубки хорошо заметны следы широко распространенной резорбции в виде больших лакун и выемок. В лакунах костной резорбции находятся многоядерные остеокласты. Сочетание аппозиционного роста кости снаружи и ее разрушение из середины имеет место на протяжении всего весенне-летнего сезона, под конец которого скелет конечностей достигает фактически дефинитивных размеров.

Когда длинные кости достигают дефинитивных размеров, архитектура кости не изменяется: диафизарная трубка состоит из грубоволокнистой костной ткани без остеонных структур (рис. 2). Для такой костной ткани характерным является хаотическое расположение волокон. Поэтому она менее крепкая, чем пластинчатая кость.

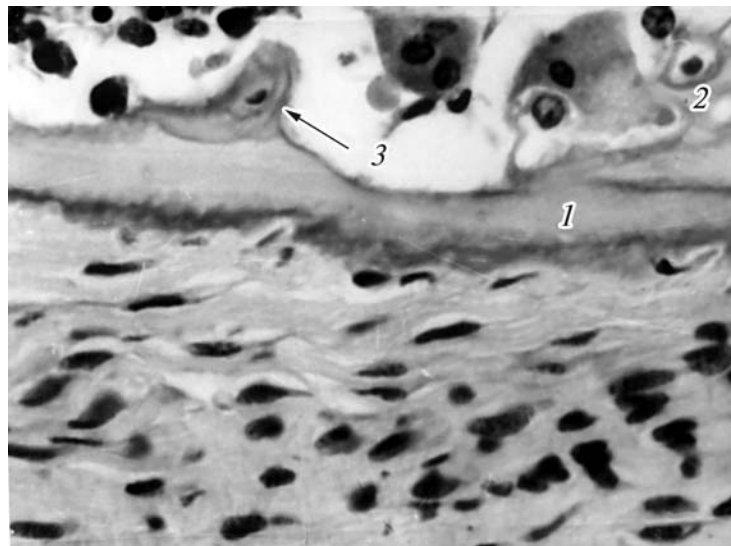


Рис. 3. Фрагмент переходной зоны между эпифизом и метафизом бедренной кости *Lacerta vivipara*: 1 — стенка костной трубки; 2 — хрящ; 3 — остеокласт (гематоксилин-тионин-эозин,  $\times 280$ ).

Fig. 3. Fragment of transitional zone between the epiphysis and metaphysis of femur *Lacerta vivipara*: 1 — wall of bony tube; 2 — cartilage; 3 — osteoclast (hematoxylin-thionin-eosin,  $\times 280$ ).

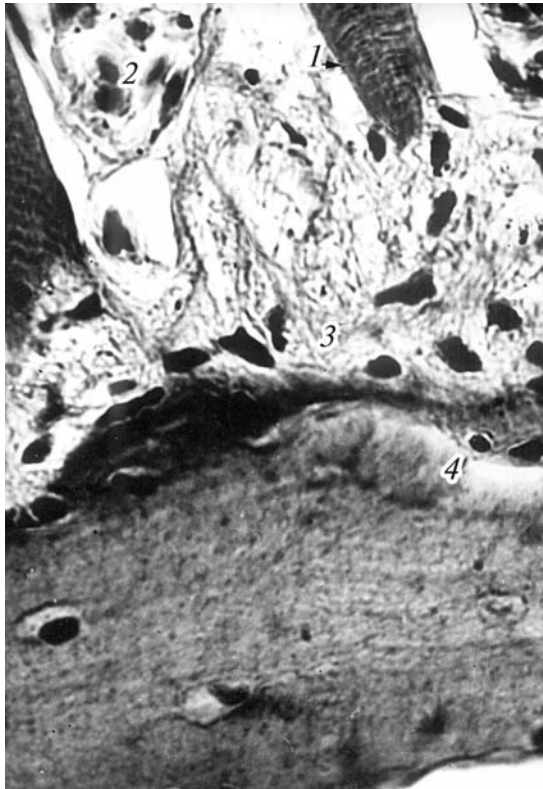


Рис. 4. Между плотноприлежащими пучками мышечной ткани и надкостницей, в ее структуре, вокруг кровеносных сосудов выявляются дополнительные костные пластинки: 1 — мышечная ткань; 2 — срез кровеносного сосуда; 3 — надкостница; 4 — костная пластинка (гематоксилин-тионин-эозин,  $\times 780$ ).

Fig. 4. The additional bony plates are revealed between fascicles of muscular tissue and periosteum, in its structure and about blood vessels: 1 — muscular; 2 — mount of blood vessel; 3 — periosteum; 4 — bony plate (hematoxylin-thionin-eosin,  $\times 780$ ).

тах между плотно прилежащими пучками мышечной ткани и надкостницей. Здесь (рис. 4), вокруг кровеносных сосудов из малодифференцированных клеток, которые активно пролиферируют и дифференцируются в остеогенные, возникают дополнительные костные пластинки, т. е. образуются локальные очаги интрамембранного окостенения.

Эти новообразованные костные пластинки сливаются с периостальным аппозиционным наслоением костного вещества, которое откладывается в это время по всему периметру растущей костной трубки конечности. Они имеют свои «зубчатые» границы (швы). Дефинитивная периостальная кость представлена в основном, губчатой костной тканью, в ней встречаются локусы хондроиды (рис. 5); по-видимому, они образуются в тех местах, где малодифференцированные клетки находились далеко от кровеносных сосудов.

Различие между энхондральным и интрамембранным окостенением состоит в том, что в первом случае костное вещество откладывается на остатках хрящевых тяжей, тогда как во втором — отложение новообразованной кости происходит на сформированных пучках коллагеновых волокон. Увеличение

С увеличением массы тела в связи с ростом естественно увеличиваются силовые и опорные нагрузки на конечности, для противодействия которым необходимы дополнительные конструкции, и они возникают с участием эндоста. Такая балочная опорная конструкция строится в метафизе остеогенными клетками эндоста на длинных тяжах гиалинового матрикса, который сохраняется в области замещения между вертикальными нишами резорбции хряща. Соответственно отличается и толщина трубки кости в средней трети диафиза у этих видов: у геккона и быстрой ящерицы она равна 3–5 мкм, у крымской ящерицы — 5,0–5,5 мкм. На поверхности компакты кости кроме 2–3 рядов остеогенных клеток иногда встречаются остеокласты, для которых всегда характерен полиморфизм. Кроме этого, на внутренней поверхности кости изредка встречаются фолькмановые каналы. Рост в длину кости продолжается за счет прогрессирующего прироста хрящевых эпифизарных участков и замещения их развивающимися костными структурами.

У половозрелой ящерицы ростовые процессы сохраняются лишь в метафизах и наиболее активно происходят в переходной зоне (между эпифизом и метафизом) (рис. 3). Например, у ящерицы — в мес-

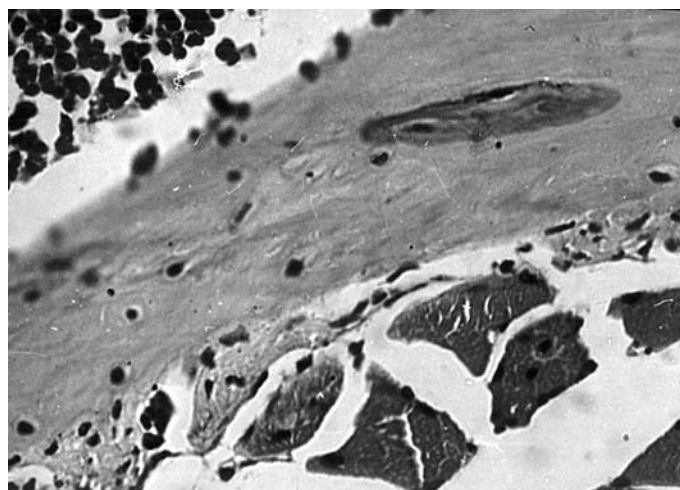


Рис. 5. В бедренной кости *L. agilis* в центре диафизарной трубки видны отдельные локусы хрящевой ткани (гематоксилин-тионин-эозин,  $\times 280$ ).

Fig. 5. The separate locuses of the cartilaginous tissue are often observed in the center of femur diaphysar tube in the *L. agilis* (hematoxylin-thionin-eosin,  $\times 280$ ).

трабекул и их слияние вскоре приводит к образованию типичной губчатой кости (рис. 6).

У рептилий (особенно у черепах) по сравнению с ящерицами лучше развита эндостальная кость, представленная массивным слоем, а также мезостальная кость. Последняя состоит из довольно крупных продольных остеонов с 2–4 рядами микронапластований, среди которых большое количество недостаточно сформированных остеонов. При этом в области заднелатеральной стенки диафиза имеет место усиление аппозиционных процессов со стороны наружной поверхности кости, приводящее к дополнительному отложению периостальной кости. Одновременно со стороны внутренней поверхности диафиза той же области наблюдается резорбция, которая выравнивает толщину стенки, сохраняя ее постоянной.

В зоне мезоста длинной кости черепах, в тех местах, где происходит интрамембранное образование кости, можно наблюдать скопления малодифференцированных клеток у кровеносных сосудов (рис. 7). Эти клетки, дифференцируясь в остеогенные, секретируют коллагеновые белки, которые формируют в межклеточном матриксе коллагеновые волокна с участием гликозаминогликанов. На ранних стадиях формирования губчатой кости один конец «молодой» трабекулы бывает обычно шире, чем другой. В этой области происходит обызвествление (отложение солей кальция) матрикса. Ионы кальция и фосфата в растворимой форме приносятся с кровью в те места, где развивается кость. На самом «молодом» конце спиккулы формирующиеся кости клетки все еще похожи на мезенхимные; они имеют хорошо выраженные отростки, слабо окрашивающуюся цитоплазму. В участках обызвествления эти клетки утрачивают свои цитоплазматические отростки, окрашиваются более интенсивно эозином и дифференцируются в остеобласты. По мере роста трабекулы они начинают контактировать друг с другом и сливаются. На стадии когда трабекулы еще тонкие, а разделяющие их пространства обширные, кость напоминает губку, и поэтому ее называют первичной губчатой костью. Промежутки между трабекулами заполняются кроветворными клетками и известны под названием костномозговых полостей.

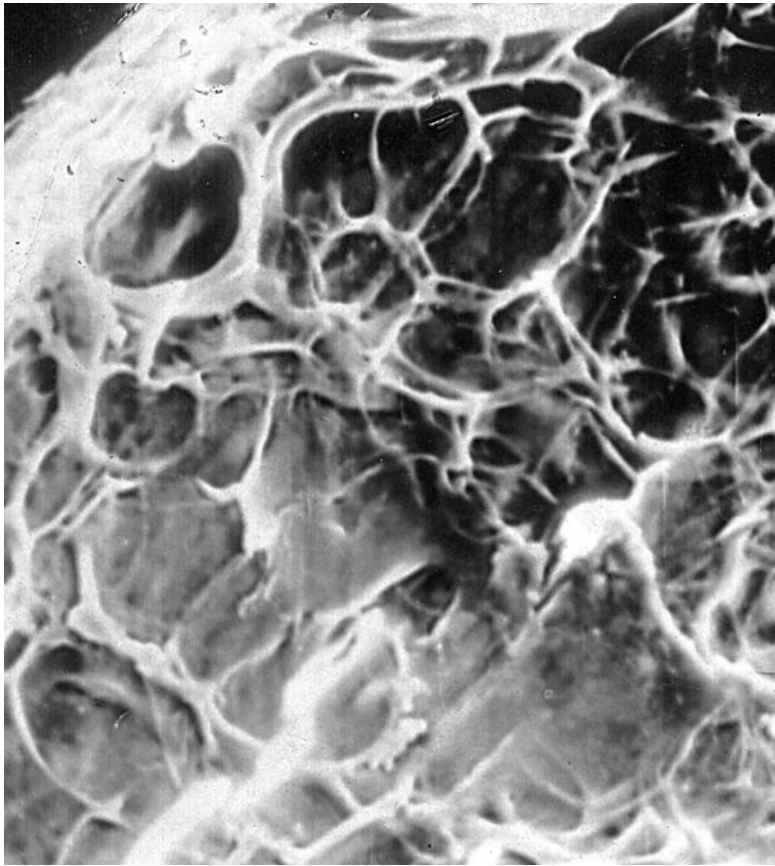


Рис. 6. Губчатая кость в бедренной конечности *L. vivipara*. Сканнограмма (x18000).

Fig. 6. Scanning electron micrograph of the cancellous of femur *L. vivipara* (x1800).

Способность к ростовым процессам сохраняется в метафизах костей взрослых черепах (так же как и у ящериц). Активно рост происходит и в переходный зонах длинных костей конечностей.

У ящериц (прыткой, травяной, живородящей — одногодичная и взрослая формы) со сравнительно коротким периодом формирования скелета конечности отдельные эпифизы в костях стилоподия замещаются уже на протяжении первых двух лет жизни, тогда как у черепах (*Emys orbicularis*, *Homopus aveolatus*) и крокодилов (*Crocodylus niloticus*) эпифизы длинных костей довольно долго остаются хрящевыми. Это связано, на наш взгляд, с продолжающимся на протяжении многих лет ростом скелета. Известно, что болотные черепахи (род *Emys*) становятся половозрелыми в 6–8 лет, имея в это время длину панциря 9–12 см; продолжительность их жизни составляет 25–30 лет. Примерно такой же возраст (8–10 лет) полового созревания и у крокодилов при продолжительности жизни 80–100 лет (Alibardi, Tompson, 1999).

Данных литературы об особенностях развития костей у черепах почти нет. В отдельных работах известно лишь о наличии у них в ультимобронхиальных железах с левой стороны тела пространств, которые заполнены колоидподобным веществом со сливающимися клетками. Авторы (Srivastav et al., 1998) считают, что эти железы у рептилий являются или служат активным секреторным органом для регуляции уровня кальция. В работе Л. Алибарди и М. Томсон (Alibardi, Thomson, 1999), рассмотрено развитие панциря у черепахи



Рис. 7. В зоне мезоста длинной кости одногодичной черепахи (*Mauremis caspica*) в участках интра-мембранного образования костных пластинок видны малодифференцированные клетки и многочисленные кровеносные сосуды (1). И как результат интрамембранной оссификации — появление костной пластинки. Сканнограмма (x2800).

Fig. 7. Scanning electron micrograph showing in long bone of *Mauremis caspica* appearance bony plate as result intramembra ossification (1). There are small-differentiated cells and many of blood vessels observed (x2800).

*Emyclura macquarii* и засвидетельствовано, что морфогенез панциря начинается на 15-й эмбриональной стадии, а его формообразование оканчивается до 19-й эмбриональной стадии. Панцирь возникает как утолщение кости в дорзальной кости туловища между передними и задними конечностями. Кальцификация его у черепах начинается на 19-й эмбриональной стадии, но она остается неполной и на эмбриональных стадиях 24–25. Образование дермальных костей начинается на 18–19-й эмбриональной стадии у пастрона.

В отличие от диафизарной области длинной кости костная субстанция метафиза возникает преимущественно путем эндостального остеогенеза. Субпериостальная кость образовалась лишь в виде тонкого покрытия со стороны боковых поверхностей, не занятых суставным хрящом. Здесь во время энхондрального замещения костная ткань всегда имеет губчатую архитектуру, главной составляющей которой есть костные спиккулы и балочки.

Механизм резорбции хряща эпифизов и замещение его костью во вторичных очагах принципиально те же, что и в очагах первичных.

Кроме изучения структуры длинных костей нами определялись толщины стенки диафизарной трубки и костномозговой полости в средней части диафиза (табл. 1). Относительные размеры костного вещества на срезах, зависящие

Таблица 1. Соотношение площадей поперечных сечений компактного вещества и всей кости у рептилий

Table 1. The attitude of the area of transversal section of compact material to the transversal section of bones

Вид	Кость	
	бедренная	плечевая
<i>Lacerta agilis</i>	0,42	0,65
<i>L. taurica</i>	0,43	0,53
<i>L. vivipara</i>	0,46	0,60
<i>Eremias velox</i>	0,47	0,52
<i>Hymnodactylus caspius</i>	0,52	0,59
<i>Varanus griseus</i>	0,70	0,78
<i>Clemmys caspica</i>	0,82	0,80

от целого ряда условий нагрузки скелета, находятся в соответствии с размерами тела животного, его массой, которая распределяется на кости конечностей как органы, участвующие в опоре и движениях тела: с увеличением массы тела животных увеличивается площадь поперечного сечения компакты как бедренной, так и плечевой кости (Безносенко, 1955).

У большинства рептилий средние величины показателя развития пластинчато-губчатого вещества довольно постоянны (0,42–0,52), несколько больше в бедренной кости у крупных рептилий (0,70–0,86). По относительным размерам диафизарных трубок ящерицы, обитающие в основном на плотном грунте, представляют в общем довольно однородную группу со средневыраженной толщиной пластинчатого вещества. В специальной литературе была отмечена взаимосвязь степени развития костной ткани губчатого вещества и пренатального роста тазовых костей в длину, а также их массой (Ertelt, 1957).

Нами установлено, что в ранний период онтогенеза диафизарная трубка у рептилий представлена, в основном, типичной грубоволокнистой костью, которая затем частично замещается пластинчатой. У черепах отмечается появление в отдельных локусах костной ткани в мезосте — губчатой кости, которая образовалась в результате деятельности малодифференцированных клеток (прошедших дифференцировку остеогенных) путем интрамембранного окостенения.

Таким образом, у рептилий диафизарная трубка в длинных костях представлена пластинчато-губчатой системой в виде ячеек. Кроме того, у рептилий параллельно с энхондральной оссификацией нами отмечено интрамембранное образование костной ткани.

Безносенко А. В. Гистоархитектоника компактного вещества трубчатых костей лошади и крупного рогатого скота в зависимости от толщины этого вещества. Сообщение 6 // Тр. Киев. вет. ин-та, 1955. — 12. — С. 155–179.

Домашевская Е. И. Сравнительно-морфологические особенности периоста у пресмыкающихся // Материалы анатомов, гистологов, эмбриологов и топографоанатомов УССР. — Полтава, 1985. — 62 с.

Домашевская Е. И. Характеристика гистроструктуры периоста у прыткой ящерицы // Вестн. зоологии. — 1986. — № 2. — С. 71–75.

Мажуга П. М., Домашевская Е. И. Развитие и структура надкостницы у наземных позвоночных. — Киев: Наук. думка, 1990. — 118 с.

Мажуга П. М., Житников А. Я., Ницевич Т. П. Развитие скелета конечностей у наземных позвоночных. — Киев: Наук. думка, 1993. — 184 с.

Румянцев А. В. Опыт исследования эволюции хрящевой и костной тканей. — М.: Изд-во АН СССР, 1958. — 375 с.

Alibardi L., Thompson M. B. Ti Morphogenesis of shell and scutes in the turtle *Emydura macquarii* // J. Zool. — 1999. — VI 47, N 3. — P. 224.

Ertelt W. Untersuchungen über Korhergrosse und Knochenstruktur bei Sangetieren // Zool. Ib., Abt. Anat. — 1957. — 74, N 4. — S. 588–638.

Srivastav A. K., Das V. K., Srivastav S. K. et al. Morphological and functional aspects of reptilian ultimobranchial gland // PY. — 1998. — 6, N 27. — P. 162.