

УДК: 577.12:577.112:577.24

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ К МЕХАНИЧЕСКОМУ НАПРЯЖЕНИЮ

О.В.Гамоліна

*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
gamolinaov@mail.ru*

В работе исследована зависимость интенсивности синтеза коллагена кожи и аорты крыс различного возраста от механической нагрузки. Получены данные о том, что удельные приросты интенсивности синтеза коллагена под действием механической нагрузки увеличиваются с возрастом. Следовательно, порог чувствительности клеток соединительной ткани к действию механической нагрузки понижается с возрастом, что объясняется увеличением жесткости межклеточного матрикса.

Ключевые слова: *возраст, коллаген, индукция синтеза, механическое напряжение.*

Введение

Стойкость соединительной ткани к действию экзогенных и эндогенных факторов – важное условие сохранения организмом гомеостаза, который поддерживается тесной функциональной связью между клетками соединительной ткани и межклеточным матриксом: результатом синтетической деятельности клеток является матрикс, от структуры и свойств которого в определенной степени зависит клеточная активность (Siegel, 1996). Во всех без исключения разновидностях соединительной ткани одним из самых важных в функциональном отношении компонентов матрикса является коллаген. Поэтому изменения именно его обмена, а, как следствие, и его структуры, которые возникают в ответ на действие разнообразных факторов, в значительной степени определяют адаптационные изменения функциональных свойств соединительной ткани в целом. Одним из влияний, которые на протяжении всей жизни испытывают соединительнотканые образования, является механическое напряжение. Именно оно в значительной степени определяет формирование, состав и функциональные свойства этих образований, органов и, в конце концов, всего организма в целом (Watson, 1991; Гарбузенко, Емец, Перский, 1997; Кузьмис, Гарбузенко, Перский, Утевская, 1999). В частности, деформация клеток под действием механического напряжения вызывает индукцию синтеза коллагена (Kainulainen, Pender, D'Addario et al., 2002; Yasuda, Kondo, Nomma, Harris, 1996). В пределах физиологических напряжений это приводит к структурным перестройкам надмолекулярных межклеточных образований.

Естественно, что с возрастом как величины, так и распределение механических нагрузок в организме изменяются. До настоящего времени, однако, внимание на возрастных особенностях этих процессов практически не акцентировалось, хотя достаточно ясно, что изменения функциональных свойств соединительной ткани в онтогенезе существенно связаны с возрастной динамикой метаболической активности клеток и структурой межклеточного матрикса.

Тем временем, именно изучение причинно-следственных связей, которые лежат в основе возрастных изменений взаимосвязи клетка – межклеточный матрикс под влиянием механической нагрузки, является очень важным для пополнения современных представлений о морфогенетической и регуляторной роли коллагеновых белков в процессах развития и старения соединительной ткани в онтогенезе организма в норме и патологии. Это важно и для практических задач медицины, ведь изменение обмена коллагена и, соответственно, вязко-упругих свойств соединительной ткани под действием механической нагрузки используется в ортопедической практике для устранения различных видов дефектов костной ткани (травматических или врожденных). Одним из методов стимулирования заживления является вытяжение под нагрузкой (Альбертс, Брей, Льюис и др., 1993).

К настоящему времени малоисследованной остается возрастная зависимость чувствительности коллагенсинтезирующих клеток соединительной ткани к механическому напряжению. Поэтому целью настоящей работы было изучение удельного прироста интенсивности синтеза коллагена на единицу механической нагрузки с возрастом.

Методика

Исследования проводили на крысах линии Вистар 3-, 12- и 24-месячного возраста. Образцы кожи спины (20 x 5 мм) и аорту инкубировали в растворе Рингера-Кребса, содержащего ³H-пролин (фирма "Amersham", Великобритания) с радиоактивностью 0,4 МБк/мл в течение 6 часов при 37⁰С в диапазоне напряжений (0–5) x 10⁵ Н/м² вдоль продольной оси (состав раствора Рингера-Кребса: трис

HCl - 9,075 г, NaCl - 8,2998 г, KCl - 0,5206 г, MgCl₂ - 2,2222 г, NaHCO₃ - 0,4333 г, C₆H₁₂O₆ - 5,4 г - довести водой до 1 литра; все реактивы фирмы "Reanal", Венгрия) (Гарбузенко, Емец, Перский, 1997). Концентрацию коллагена в образцах рассчитывали по содержанию в них оксипролина (Berg, 1982). Интенсивность синтеза коллагена оценивали по удельной радиоактивности ³H-оксипролина в нём. Статистическую обработку экспериментальных результатов и оценку значимости между группами полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента по методу Стьюдента-Фишера (Иванов, Погорелюк, 1990).

Результаты и обсуждение

Из полученных зависимостей интенсивности синтеза от приложенного напряжения (рис. 1) видно, что в области физиологических нагрузок (восходящая часть кривых) при увеличении напряжения происходит практически линейное повышение интенсивности синтеза коллагена в коже и аорте крыс всех возрастов. Базовый уровень синтеза коллагена, размер его абсолютного прироста в максимуме кривых и общий объем дополнительного синтеза и в коже, и в аорте является наибольшим у 3-, а наименьшим – у 24-месячных животных (рис. 1 и рис. 2А). Также из рисунка 1 видно, что диапазон напряжений, в котором происходит рост интенсивности синтеза, существенно сужается с возрастом животных, а максимум синтеза сдвигается в сторону меньших напряжений. При этом крутизна восходящей части полученных зависимостей оказывается наибольшей у 24- и наименьшей у 3-месячных животных. Таким образом, удельный прирост интенсивности синтеза коллагена на единицу напряжения повышается с возрастом (рис. 2Б). Это свидетельствует о том, что в исследованных тканях при значительно меньших синтетических возможностях чувствительность коллагенсинтезирующих клеток к механическому напряжению увеличивается, а порог чувствительности снижается в онтогенезе. Причиной этого явления могут быть известные возрастные изменения структуры соединительной ткани, а именно изменение в коллагеновых образованиях количества поперечных ковалентных сшивок, определяющих вязко-упругие свойства коллагеновой сети в целом (Bank, Verzijl, Lafeber, Tekoppele, 2002). Хорошо известно, что с возрастом во всех без исключения разновидностях соединительной ткани число поперечных связей в коллагене возрастает (Bjorksten, Tenhu, 1990; Bailey, Paul, Knott, 1998).

Понижение порога чувствительности клеток к действию механического напряжения при повышении жесткости коллагеновой части матрикса можно объяснить следующим образом. Межклеточный матрикс представляет собой вязко-упругое образование, в котором под действием нагрузки вначале идут процессы вязкого течения, заключающиеся, прежде всего, в переориентации надмолекулярных структур. Лишь после их практически полного ориентационного упорядочения начинается процесс упругого растяжения матрикса. При низкой степени поперечного связывания растяжение сети волокон осуществляется в основном за счет вязкого течения, и значительная часть энергии напряжения расходуется на переориентацию этих волокон. Поэтому силы, передающиеся на мембрану клетки, оказываются недостаточными для того, чтобы сигнал о механическом напряжении достиг величины, необходимой для индукции синтеза. С повышением жесткости все большую роль начинает играть упругость сети. Даже при малых напряжениях растягивающие силы, приложенные к мембранам клеток, оказываются достаточными для создания пороговой величины сигнала, вызывающей индукцию синтеза коллагена.

Таким образом, удельный прирост интенсивности синтеза коллагена на единицу напряжения повышается с возрастом, откуда следует, что чувствительность клеток соединительной ткани к действию механического напряжения повышается с возрастом вследствие того, что с возрастом увеличивается жесткость межклеточного матрикса и всей ткани в целом.

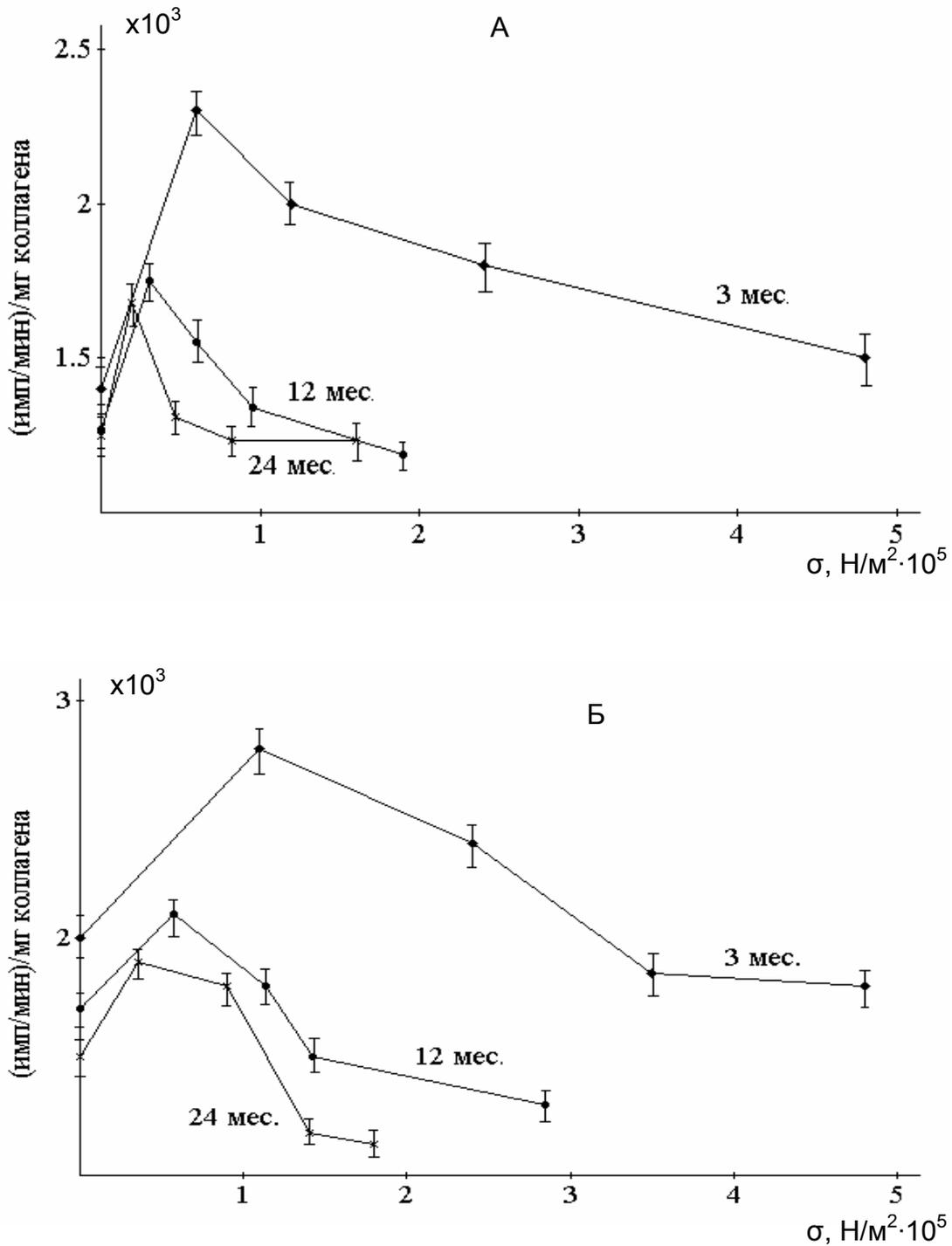


Рис. 1. Влияние механического напряжения (σ) на удельную радиоактивность ^3H -оксипролина в общем коллагене кожи (А) и аорты (Б) крыс разного возраста после инкубации *in vitro*

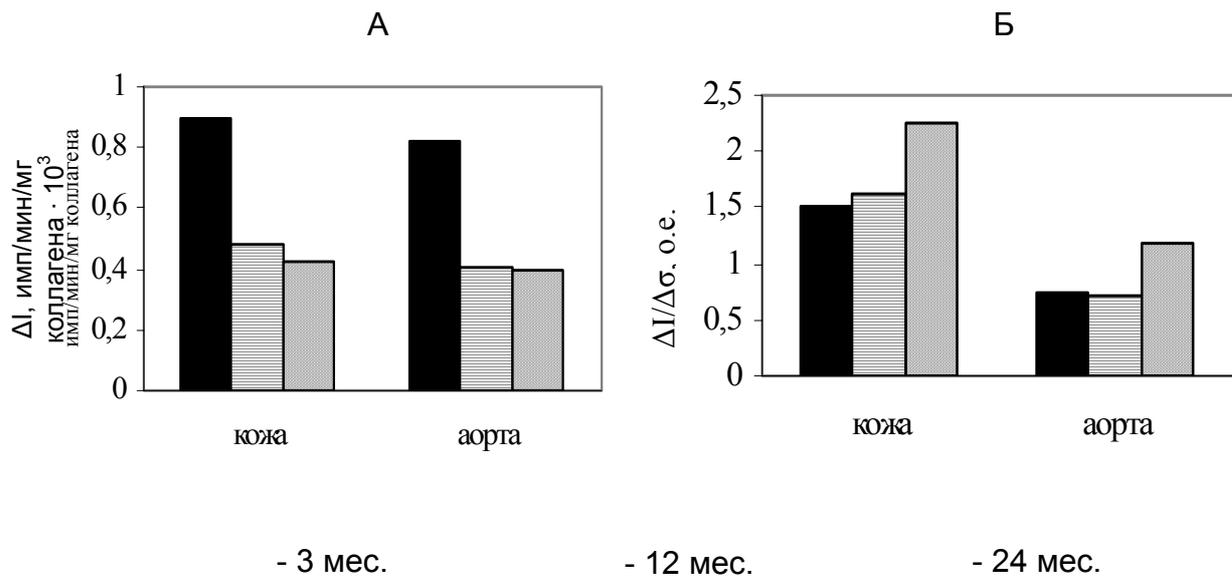


Рис.2. Абсолютные (А) и удельные (Б) приросты интенсивности синтеза коллагена в максимуме синтеза в коже и аорте крыс разного возраста

Список литературы

- Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки (В 3 т.). - М.: Мир, 1993. - Т.2. - 539с.
- Гарбузенко О.Б., Емец Е.Б., Перский Е.Э. Влияние деформации на обмен белков и механические свойства аорты и кожи крыс *in vitro* // Вестн. пробл. биол. и мед. - 1997. - №25. - С. 12-18.
- Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам. - М.: Медицина, 1990. - 224с.
- Кузьмис А.Э., Гарбузенко О.Б., Перский Е.Э., Утевская Л.А. Молекулярные механизмы формирования вязко-упругих свойств соединительной ткани под действием внешнего механического напряжения // Вісн. Харк. ун-ту. - №466. - Сер. Біофізичний вісник. - 1999. - Вип.5. - С. 99-102.
- Bailey A.J., Paul A.J., Knott L. Mechanisms of maturation and ageing of collagen // Mech. Ageing Dev. - 1998. - Vol.106, № 1-2. - P. 1-56.
- Bank R.A., Verzijl N., Lafeber F.P., Tekoppele J.M. Putative role of lisil hydroxylation and pyridinoline cross-linking during adolescence in the occurrence of osteoarthritis at old age // Osteoarthritis Cartilage. - 2002. - Vol.10, №2. - P. 127-134.
- Berg R.A. Determination of 3- and 4-hydroxyproline // Meth. Enzymol. - 1982. - Vol.82. - P. 372-397.
- Bjorksten J., Tenhu H. The crosslinking theory of aging-added evidence // Exp. Gerontol. - 1990. - Vol.25, №2. - P. 91-95.
- Kainulainen T., Pender A., D'Addario M. et al. Cell death and mechanoprotection by filamin a in connective tissues after challenge by applied tensile forces // J. Biol. Chem. - 2002. - Vol.277, №24. - P. 21998-22009.
- Siegel G. Connective tissue: more than just a matrix for cells // Comprehensive human physiology. - Berlin, Heidelberg, New York, London, Tokyo, Hong Kong: Springer-Verlag, 1996. - Vol.1. - P. 173-224.
- Watson P.A. Function follows forms generations of extracellular signals by cell deformation // FASEB J. - 1991. - P. 2013-2019.
- Yasuda T., Kondo S., Homma T., Harris R.C. Regulation of extracellular matrix by mechanical stress in rat glomerular mesangial cells// J. Clin. Invest. - 1996. - Vol.98. - P. 1991-2000.

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЧУТЛИВОСТІ КЛІТИН СПОЛУЧНОЇ
ТКАНИНИ ДО ДІЇ МЕХАНІЧНОЇ НАПРУГИ
О.В.Гамоліна**

У даній роботі досліджена залежність інтенсивності синтезу колагену шкіри та аорти щурів різного віку від механічної напруги. Отримані дані про те, що питомі прирости інтенсивності синтезу колагену під дією механічної напруги збільшуються з віком. Отже, поріг чутливості клітин сполучної тканини до дії механічної напруги знижується з віком, що пояснюється збільшенням жорсткості міжклітинного матриксу.

Ключові слова: *вік, колаген, індукція синтезу, механічна напруга.*

**AGE PECULIARITIES OF CONNECTIVE TISSUE CELL
SENSITIVITY TO MECHANICAL LOAD
O.V.Gamolina**

Dependence of collagen synthesis intensity from mechanical load in rat skin and aortas of different ages has been investigated in the study. The data which are in favour of the fact that collagen synthesis intensity specific growths under the mechanical load influence rise with age have been obtained. Hence, connective tissue cell sensitivity threshold to the mechanical load influence drops with age. This conclusion can be interpreted by known fact that connective tissue extracellular matrix stiffness rises with age.

Key words: *age, collagen, synthesis induction, mechanical load.*

**Представлено Ф.С.Леонтієвою
Рекомендовано до друку П.А.Каліманом**