

УДК 613.15:612.014.464-616.71-007.234

Влияние дозированной гипоксии на метаболизм костной ткани в условиях осевой разгрузки задних конечностей

В. А. Березовский¹, И. Г. Литовка¹, Е. Г. Чака¹,
С. Магомедов², Н. В. Мехед²

¹Институт фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ

²Український науково-дослідний інститут травматології та ортопедії МЗ України, Київ

Надійшла до редакції 06.12.99

Вивчався вплив зниженого P_{O_2} в умовах нормобарії на кальцій-фосфорний метаболізм, біохімічні показники ремоделювання і біомеханічні властивості стегнових кісток щурів, задні кінцівки яких знаходились в безопорному положенні. Газова суміш подавалась у переривчастому режимі А і Б по 8 год щоденно на протязі 28 діб. Показано, що в режимі А відбувалась гальмування розвитку деструктивних процесів в кістковій тканині, що може бути використано разом з іншими коригуючими засобами для профілактики розвитку ситуаційної остеопенії.

Изучение нарушений физиологического состояния костной ткани в условиях микрогравитации имеет как общебиологический, так и практический интерес для здоровья человека, пребывающего в условиях космического полета. Тенденция к широкому распространению остеопороза возникает также при типичной для населения больших городов гипокинезии или после длительного пребывания пациента на постельном режиме.

Сопоставление характеристик костных изменений, полученных в результате обследования российских и американских космонавтов [19, 37], пациентов в условиях постельного режима [32, 33] и модельных экспериментах с безусловным выключением опорной функции конечности [7, 8, 35] позволила выявить общие закономерности развития остеодистрофических процессов, возникающих в этих случаях. Выраженность остеодистрофии значительно варьирует в костных тканях с различным анатомо-функциональным назначением. Так, после космического полета самая высокая скорость потери минералов у космонавтов регистрировалась в

зоне большого вертела (до 14 %), а самая низкая — в проксимальном эпифизе большеберцовой кости (до 3 %) [19, 37]. Промежуточное положение занимают поясничные позвонки и кости таза. Аналогичные результаты были получены в опытах на животных с осевой разгрузкой костей бедра [6, 10, 34].

Изменения костной ткани в условиях космического полета или постельного режима носят адаптивный характер, и следовательно, методы комплексного воздействия (фармакопрофилактика, физические тренировки), замедляющие ее перестройку, могут быть полезны для сокращения сроков реадaptации при возвращении на Землю. Однако, как показывает практика, ни физические упражнения, ни фармакопрофилактика не способны в полной мере защитить организм от потери кальция костной тканью. Возможно, это обусловлено тем, что такие воздействия не могут обеспечить должный уровень возбуждения остеонов костей скелета, адекватный тому, который создается постоянной земной гравитацией.

С позиций патогенеза остеодистрофии бездействия особый интерес представляет характеристика изменений костной ткани на их ранней стадии, когда обнаруживается замедление прироста массы тела, а убыль костной массы еще не регистрируется. Тем более, что возможны и другие механизмы возникновения остеодистрофии, не связанные с обменом кальция, которые определяются функциональным состоянием клеточного аппарата и внеклеточной фазы кости [28].

Одним из возможных путей профилактики остеодистрофии бездействия может быть искусственная газовая среда (ИГС) в месте обитания [2, 3, 8, 31]. Однако данные о влиянии ИГС на состояние костной ткани неоднозначны [30, 39, 41]. Это связано в первую очередь с условиями проведения экспериментов: гипо- или гипербарией, парциальным давлением P_{O_2} в газовой смеси, режимом воздействия ИГС [7, 37], видовыми различиями реакций на гипоксию [1].

Целью настоящей работы является изучение особенностей воздействия двух различных прерывистых режимов вдыхания ИГС с пониженным парциальным давлением кислорода (P_{O_2}) в условиях нормального атмосферного давления на состояние бедренных костей по биомеханическим и биохимическим показателям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 70 крысах-самцах линии Вистар массой 130—150 г. Животные были разделены на группы: I, IV — виварный контроль, II, V — крысы с безопорным положением задних конечностей в среде атмосферного воздуха и III, VI — крысы с безопорным положением задних конечностей в нормобарической ИГС с пониженным P_{O_2} (90—110 мм. рт. ст), что по содержанию кислорода соответствует высоте 2.8—4.5 км над уровнем моря. Подачу ИГС осуществляли в прерывистых режимах А и Б ежедневно на протяжении 8 ч в течение 28 сут с помощью мембранного генератора горного воздуха «Борей». Безопорное положение задних конечностей у крыс II, V и III, VI групп создавалось вывешиванием по методу Морей—Холтона [35]. Стандартный корм и воду все группы животных получали без ограничений.

За день до окончания эксперимента у всех животных собирали суточную мочу и фекалии. На следующий день животных декапитировали под рауш-наркозом, выделяли бедренные кости. Объем кости определяли объемно-весовым методом. Био-

механические испытания бедренных костей на трехточечный изгиб проводили на установке МР-200. По полученным данным оценивали несущую способность, жесткость, энергию упругой деформации, модуль упругости, предел прочности. Фрагменты скелетированных бедренных костей обезжировали и обезжирили в спирт-эфире (3:1) и сжигали в муфельной печи при $t = 700$ °С. Рассчитывали плотность кости, минеральную насыщенность и зольность.

В крови, моче и фекалиях определяли концентрацию кальция и фосфора. В золе дистального и проксимального эпифизов и диафизов бедренных костей определяли концентрацию кальция, фосфора и магния. Рассчитывали количество выведенного кальция и фосфора за сутки и соотношение Ca/P во всех исследуемых тканях. Определение концентрации кальция и фосфора проводили фотометрически с помощью наборов фирмы «Sentinel CH» (Италия). Для определения ранних изменений состояния остеобластов и остеокластов в костной ткани определяли активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови (ЩФ, К.Ф. 3.1.3.1.), общую каталитическую активность кислой фосфатазы (КФ, К.Ф.3.1.3.2) и тартрат-резистентной кислой фосфатазы с помощью стандартных наборов «Лахемма» (Брно, Чехия). О метаболизме коллагена судили по изменению концентрации гликозаминогликанов (ГАГ) в сыворотке крови по методу Кляцкина [13]. Фракции гидроксипролина в сыворотке крови разделяли по методу Frey [29], оксипролин в них определяли по методу Stegemann [38], общий оксипролин в моче — по методу Крель и др. [16], креатинин в моче — по методу Поппера [15], концентрацию глюкуроновых кислот в костной ткани — по методу Bitter, Menir (1962) в модификации Леонтьева и др. [17]. Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении 28 сут экспериментов наблюдалось неравномерное изменение массы тела у животных всех групп (рис. 1). У крыс контрольных групп (I и IV) прирост массы тела за первые две недели составлял 35—53 %. У животных с безопорным положением задних конечностей (II, V) темп прироста массы тела был значительно ниже — всего около 8—19 %. У животных с сочетанным действием безопорного положения задних конечностей с вдыханием ИГС с пониженным P_{O_2} (III, VI) наблюдалось увеличение массы тела после 28 сут экспе-

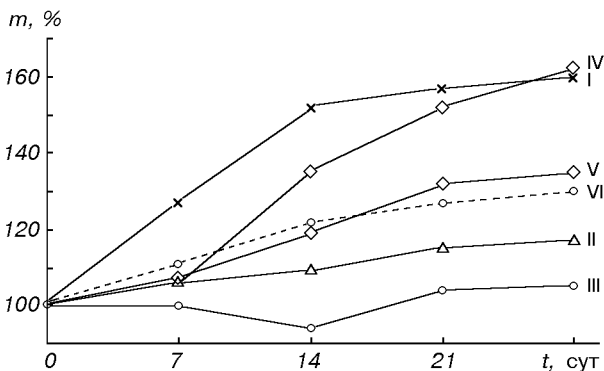


Рис. 1. Изменения массы тела контрольных (I, IV) и подопытных (II, III, V, VI) животных (см. текст)

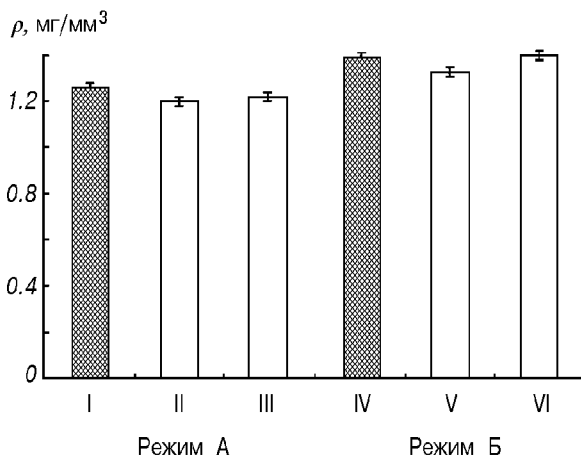


Рис. 2. Плотность ткани бедренных костей у контрольных (I, IV) и подопытных (II, III, V, VI) животных

римента на 5 и 30 % соответственно. У подопытных животных II, V и III, VI групп прирост массы бедренных костей замедлялся на 12.5, 16.8 и 21 % соответственно и объема бедренных костей на 8, 11, 3.5 и 21 % соответственно. Задержка роста бедренных костей у этих групп животных была значительно меньшей, чем отставание в массе тела.

У крыс с разгрузкой задних конечностей плотность ткани бедренных костей достоверно снижалась. У животных III, VI групп, получавших газовую смесь с пониженным P_{O_2} в режиме А и Б, этот показатель снижался в меньшей степени (рис. 2). Изменения плотности кости такой же направленности наблюдали и в проксимальном эпифизе. В то же время отмечали разнонаправленное влияние сочетанного действия разгрузки задних конечностей и подачи ИГС в режиме Б на минеральную

насыщенность и зольность костной ткани у крыс VI группы. Минеральная насыщенность дистального эпифиза снижалась на 18.8 %, а проксимального — повышалась на 8.7 % по сравнению с животными V группы. Зольность практически не изменялась в проксимальном эпифизе и снижалась на 22.6 % в дистальном эпифизе. Минеральная насыщенность в дистальном эпифизе и проксимальном снижалась по сравнению с контролем на 23 и 18 % соответственно, а зольность — на 20 и 16 %.

Снижение плотности, минеральной насыщенности и зольности подтверждает развитие деструктивных процессов в изученных участках костной ткани. Это согласуется с данными других авторов [9] о большей скорости протекания обменных процессов в губчатой ткани по сравнению с компактной. Такие различия были объяснены этими авторами не только неодинаковой скоростью метаболизма в указанных структурах и фазностью изменений скорости синтеза и резорбции. Выдвинуто предположение [23], что при воздействии на организм такого стрессора, как невесомость, наиболее ранней и универсальной реакцией костной ткани (1 фаза) является торможение как развития, так и разрушения в губчатой и в компактной структурах кости. В последующем развивается вторая фаза — активация процесса резорбции, что отражает биологическую нецелесообразность сохранения исходной костной массы в условиях отсутствия весовой нагрузки. Однако в силу неодинаковой интенсивности метаболизма в разных участках ткани при невесомости продолжительностью около 20 сут в губчатых структурах проявлялась преимущественно 2-я, а в компактных — 1-я фаза реакции.

Анализ данных, полученных нами при исследовании целой бедренной кости на трехточечный изгиб, показал достоверное снижение (на 35 %) несущей способности (НС) кости у крыс с разгрузкой задних конечностей (таблица). Для этой группы животных НС равна 6.7 ± 0.56 кгс, тогда как для контрольной группы животных 10.4 ± 0.63 кгс. В то же время у подопытных животных III группы, получавших как разгрузку, так и гипоксическую смесь в режиме А происходила нормализация этого показателя. Несущая способность кости повышалась в 1.2 раза по сравнению с животными II группы и составила 8.15 ± 0.76 кгс. У животных VI группы, получавших ИГС в режиме Б, наблюдалось снижение НС кости как по отношению к контролю, так и по отношению к группе с разгрузкой задних конечностей.

Жесткость и энергия упругого деформирования кости крыс при сочетанном влиянии разгрузки и ИГС в режиме А практически не отличались от величин у животных контрольной группы и увели-

Механические свойства бедренных костей крыс после 28-суточной разгрузки задних конечностей в атмосфере воздуха и ИГС (M + m)

Номер групп животных	Несущая способность P, кгс	Жесткость f, кгс/мм	Энергия упругой деформации а, кгс·мм	Предел прочности σ , кгс/мм ²	Модуль упругости E, кгс/мм ²	Удельная энергия упругого деформирования А, кгс/мм ²
I (n = 18)	10.40±0.63	18.56±1.16	3.00±0.27	16.51±0.98	37.86±5.47	4.39±0.62
II (n = 13)	6.70±0.56*	16.49±0.88	1.59±0.23*	12.58±1.12*	11.84±2.35*	7.72±0.91*
III (n = 13)	8.15±0.76*	17.90±1.26	2.03±0.41*	13.55±1.79	23.68±7.15	5.25±1.53
IV (n = 11)	8.08±0.58	16.33±1.12	2.11±0.24	12.97±1.04	27.62±5.20	3.94±0.57
V (n = 8)	5.25±0.89*	14.47±1.39	1.23±0.38	9.51±1.93	11.68±4.48*	10.01±4.35
VI (n = 8)	4.47±0.64*	11.16±1.88*	1.22±0.33*	8.37±1.27*	19.07±9.10	7.26±3.43

* — достоверные изменения по сравнению с контролем ($p < 0.05$)

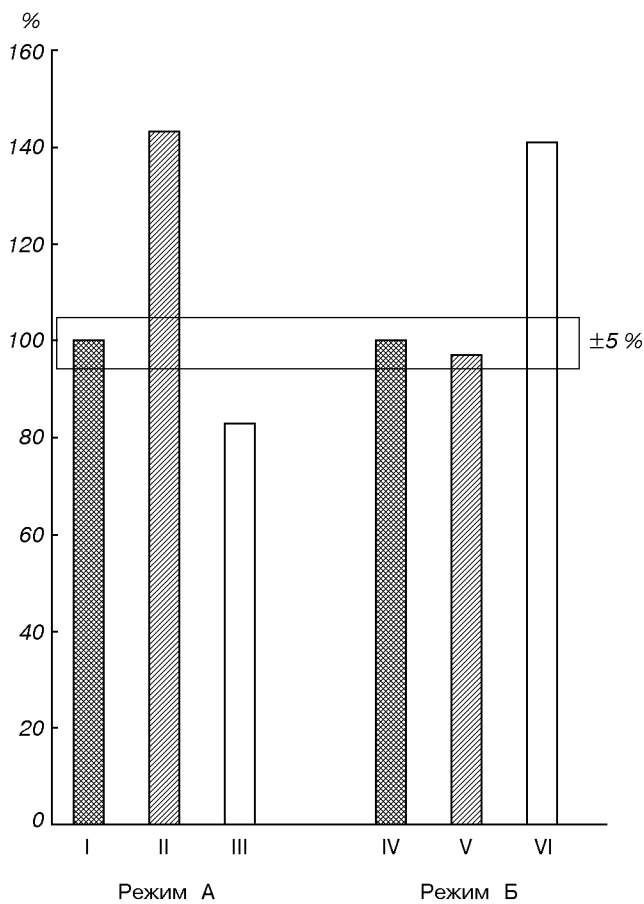


Рис. 3. Экскреция фосфора у контрольных (I, IV) и подопытных (II, III, V, VI) животных

чивались по отношению к величинам в группе с разгрузкой задних конечностей. Вдыхание ИГС в режиме Б и разгрузка задних конечностей снижали жесткость в 1.5 раза по сравнению с контролем и в 1.3 раза по сравнению с животными с разгрузкой

задних конечностей. При этом энергия упругой деформации кости снижалась на 42 % ($p < 0.05$) по сравнению с контролем и не изменялась по сравнению с величинами у животных с разгрузкой задних конечностей. Модуль упругости достоверно снижался (в среднем в три раза) у крыс с разгрузкой задних конечностей по сравнению с контролем. ИГС, подаваемая в режиме А и Б, способствовала нормализации модуля упругости.

Предел прочности кости в группе крыс, вдыхавших ИГС в режиме А, сохранялся близким к контролю, несмотря на 28-суточное вывешивание. В то же время у крыс, вдыхавших ИГС в режиме Б, этот показатель достоверно снижался в 1.5 раза по сравнению с контролем и в 1.1 раза по сравнению с группой животных с безопорным положением задних конечностей, вдыхавших атмосферный воздух. Таким образом, газовая смесь с пониженным P_{O_2} , подаваемая в прерывистом режиме А, тормозила развитие деструктивных процессов в костной ткани крыс с безопорным положением задних конечностей в большей степени.

Изучение экскреции Са и Р показало, что под влиянием безопорного положения задних конечностей у крыс II, IV групп количество выведенного Р было в 1.1—1.3 раза (рис. 3), а Са — в 1.4—2 раза большим по сравнению с крысами контрольной группы (рис. 4). У крыс III, VI групп количество экскретируемого Са приближалось к значениям контрольной группы, а Р было на 20 % меньше, чем в контрольной группе. Отношение Са/Р у всех подопытных животных имело тенденцию к снижению. В сыворотке крови наблюдали снижение концентрации Са у крыс II группы на 10.8 %, а IV — на 12 %. У животных III группы содержание Са было близко к норме. Концентрация Р имела тенденцию к увеличению на 10 и 12 % у крыс II и VI групп. У животных III группы концентрация Р снижалась по сравнению с контролем на 17 %. Соответственно и отношение Са/Р снижалось в

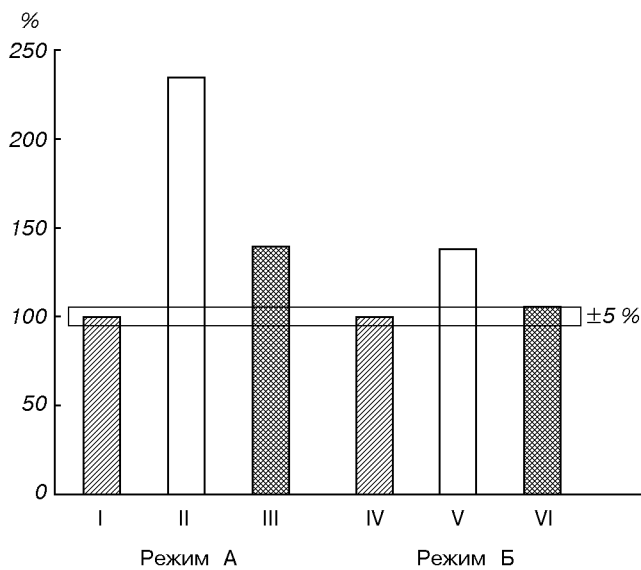


Рис. 4. Экскреция кальция у контрольных (I, IV) и подопытных (II, III, V, VI) животных

сыворотке крови крыс II, VI групп ($p < 0.05$) и повышалось у крыс III группы.

В костной ткани, в отличие от сыворотки крови, содержание Ca, P, Mg у животных всех групп оставалось в пределах обычных внутривидовых вариаций.

Таким образом, 28-суточная разгрузка задних конечностей достоверно увеличивает выведение Ca и P с мочой и фекалиями. Учитывая, что биомеханические свойства костной ткани существенно изменяются, можно предположить, что изменения состояния кости при ее осевой разгрузке начинаются не с деминерализации, а с угнетения процессов всасывания кальция в кишечнике и его усвоения из пищи, с замедления процесса физиологической реструктуризации костной ткани.

В исследованиях органического матрикса на этих же группах животных мы наблюдали тенденцию к повышению активности ЩФ в сыворотке крови у крыс II группы по сравнению с виварным контролем (рис. 5). Такие результаты могут быть как при активном росте костной ткани, так и при ее разрушении [21, 24]. Активность ЩФ у крыс III группы, вдыхавших ИГС в режиме А, была ниже, чем у животных II группы. Более того, активность ЩФ у животных III группы не отличалась от виварного контроля. У крыс VI группы, вдыхавших ИГС в режиме Б, активность ЩФ имела тенденцию к повышению по сравнению с животными с разгру-

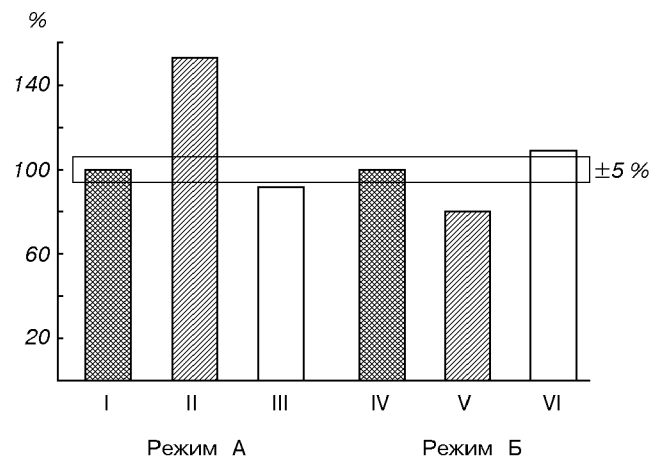


Рис. 5. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови контрольных (I, IV) и подопытных (II, III, V, VI) животных

женными задними конечностями и не отличалась от виварного контроля. Это свидетельствует о торможении деструкции костной ткани у крыс с осевой разгрузкой костей бедра при снижении P_{O_2} .

В сыворотке крови всех исследованных групп закономерного изменения активности КФ и тартрат-резистентной фосфатазы не выявлено. Не исключено, что на ранних этапах остеодистрофии резорбция костного матрикса может осуществляться без активации остеокластов. Ранее было показано, что декальцинация может развиваться и без заметного изменения структуры кости [36].

После 28-суточного безопорного положения задних конечностей у крыс, вдыхавших атмосферный воздух, концентрация ГАГ в сыворотке крови (рис. 6) повышалась в 2.1 раза ($p < 0.05$). Иными словами у животных II группы произошло нарушение метаболизма протеогликанов, которые поддерживают целостность соединительнотканного матрикса. Протеогликаны играют важную роль в процессах роста и дифференцировки клеток, поскольку регулируют рост и ориентацию коллагеновых фибрилл, стабилизируют структуру волокон [14, 22, 38]. При сочетанном действии безопорного положения задних конечностей и ИГС, подаваемой в прерывистом режиме А, у крыс III группы отмечена нормализация концентрации ГАГ. В прерывистом режиме Б направленность реакции при подаче ИГС была такой же, но менее выраженной. Из этого мы делаем вывод, что ИГС, подаваемая в режиме А, эффективнее тормозит деструктивные процессы в метаболизме протеогликанов. Возможно, это является одной из причин более полного

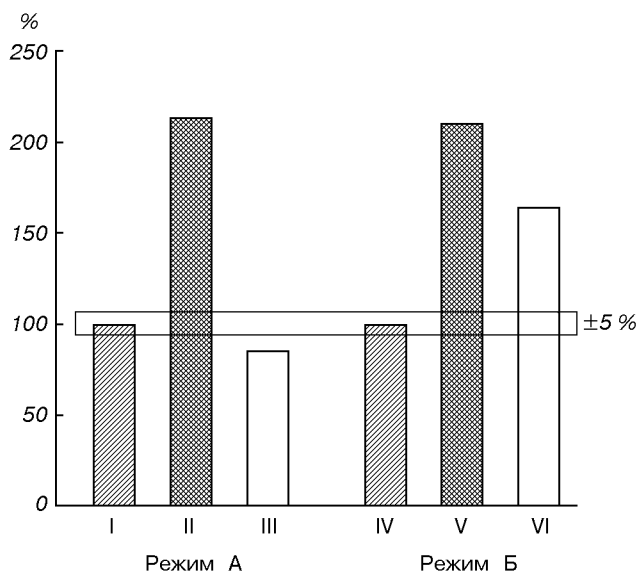


Рис. 6. Концентрация ГАГ в сыворотке крови контрольных (I, IV) и подопытных (II, III, V, VI) животных

сохранения биомеханических свойств костной ткани у животных этой группы.

Концентрация свободного оксипролина (ОКП) в сыворотке крови крыс II группы снижалась в 1.5 раза ($p < 0.05$). У животных III группы этот показатель оставался таким же, как и у крыс контрольной группы. Содержание белковосвязанного ОКП в сыворотке крови имело тенденцию к повышению, как у животных II группы, так и III группы. Вместе с тем экскреция креатинина у всех подопытных животных не изменялась по сравнению с виварным контролем. Выведение общего ОКП с мочой, который является продуктом катаболизма коллагена, и служит показателем интенсивности этого процесса, снижалось на 40 % и 61 % соответственно у крыс II и III групп. Подобные изменения этих показателей наблюдали и у подопытных животных других групп. Такое выраженное торможение экскреции ОКП у лабораторных животных III, VI групп, хорошо коррелирует с описанными выше данными об изменениях содержания протеогликанов. Концентрация глюкуроновых кислот в бедренных костях крыс экспериментальных групп не изменялась по сравнению с виварным контролем.

Результаты проведенных исследований подтверждают сведения о том, что у животных, находившихся в условиях длительной разгрузки задних конечностей, происходят значительные изменения биомеханических свойств кости. Снижается ее спо-

собность оказывать сопротивление нагрузке, повышается хрупкость. Это означает, что переломы кости могут возникать при меньших нагрузках, чем обычно. В то же время концентрация минеральных солей в бедренных костях у обследованных животных мало отличалась от физиологического уровня, что отмечается и другими авторами [4, 11, 19]. Возможно, что отсутствие осевой нагрузки, замедляя метаболизм органического матрикса, изменяет размеры кристаллов гидроксиапатита, составляющих основной геометрический каркас кости. А чем кристаллы крупнее, тем выше вероятность возникновения трещин между ними. Показано, что развивающиеся при функциональной разгрузке задних конечностей структурные нарушения способны усиливать друг друга [12, 21].

Отсутствие механической нагрузки снижает интенсивность потребления кислорода и скорость remodelирования структурных элементов кости. Потребность костной ткани в поступлении новых порций кальция уменьшается. Но поступление его с пищей остается на прежнем уровне. Невостребованные кальций и фосфор выводятся с экскрементами, что свидетельствует о торможении усвоения этих веществ при безопорном положении задних конечностей. У животных, получавших газовую смесь с пониженным P_{O_2} как в режиме А, так и в режиме Б, количество выведенного Са и Р существенно уменьшалось. Одновременно замедлялось изменение биомеханических свойств костной ткани в особенности у крыс, получавших гипоксическую газовую смесь в режиме А. Это свидетельствует о стабилизирующей роли периодического понижения парциального давления кислорода на костный метаболизм в условиях, моделирующих функциональную разгрузку.

Безопорное положение задних конечностей у крыс приводило к статистически достоверному повышению уровня ГАГ в сыворотке крови. Это можно рассматривать как признак усиления распада протеогликанов, что не может не отразиться на трофике и механических свойствах костной ткани [18]. Так как при этом не наблюдалось заметных изменений в активности ЩФ и КФ в сыворотке крови и (как было показано в наших предыдущих исследованиях) в костной ткани [5], а экскреция оксипролина снижалась, можно заключить, что процессы формирования и резорбции кости у крыс при осевой разгрузке задних конечностей находятся в равновесии при относительном преобладании процессов резорбции.

При отсутствии механических стимулов для активации метаболизма кости необходим дополнительный раздражитель, который способен повысить

физиологическую активность остеобластов. Таким раздражителем может быть начальный этап кислородного голодания. Газовая смесь с пониженным содержанием кислорода, подаваемая в прерывистом режиме А, тормозит развитие деструктивных процессов, положительно влияет на биофизические характеристики костной ткани у животных с безопорным положением задних конечностей. Считаем, что этот метод, совместно с другими корректирующими воздействиями, может использоваться для профилактики ситуационной остеопении.

ВЫВОДЫ

1. В условиях 28 суточного безопорного положения задних конечностей в бедренных костях крыс развиваются деструктивные изменения, которые проявляются в снижении абсолютной массы, плотности и биомеханических свойств кости.

2. Вывешивание животных в атмосфере воздуха существенно увеличивает выведение кальция и фосфора с мочой и фекалиями. У крыс, вдыхавших газовую смесь с пониженным P_{O_2} в этих же условиях, выведение кальция и фосфора было значительно ниже, чем у крыс, дышавших атмосферным воздухом.

3. Содержание кальция, фосфора и магния в бедренных костях крыс после 28-суточной разгрузки задних конечностей существенно не изменяется.

4. У крыс с безопорным положением задних конечностей при дыхании атмосферным воздухом концентрация гликозаминогликанов в сыворотке крови повышалась, тогда как вдыхание газовой смеси с пониженным P_{O_2} в тех же условиях тормозило развитие нарушений метаболизма протеогликанов.

5. Сопоставление двух режимов (А и Б) подачи газовой смеси с пониженным P_{O_2} показало, что в режиме А существенно тормозится снижение предела прочности, несущей способности, жесткости, энергии упругого деформирования бедренных костей крыс и показателей метаболизма протеогликанов.

1. Березовский В. А. Напряжение кислорода в тканях животных и человека. — Киев, 1975.—280 с.
2. Березовский В. А., Левашов М. И. Физиологические предпосылки и механизмы нормализующего действия нормобарической гипоксии и оротерапии // Физиол. журн.—1992.—38, № 5.—С. 3—12.
3. Березовский В. А., Левашов М. И. Введение в оротерапию. — Изд-во Академии проблем гипоксии РФ, 2000.—76 с.
4. Березовский В. Я., Литовка И. Г., Чака О. Г. Реакция

сполучной ткани на аксиальные розвантаження кісток стегна // Физиол. журн.—1998.—44, № 3.—С. 284.

5. Березовский В. А., Литовка И. Г., Чака О. Г. и др. Биофизическая стимуляция остеогенеза // Пробл. остеологии.—1999.—2, № 2.—С. 12—15.
6. Воложин А. И. Механизмы остеодистрофии при невесомости // Патол. физиология и эксперим. терапия.—1984.—№ 1.—С. 19—27.
7. Воложин А. И., Лемецкая Т. И. Изменение кальциевого и фосфорного обмена в костях и зубах при кислородном голодании // Патол. физиология и эксперим. мед.—1970.—14, № 5.—С. 16—20.
8. Газенко О. Г. Некоторые вопросы оптимизации среды обитания // Пробл. космич. биол.—1997.—34.—С. 9—38.
9. Григорьев А. И., Воложин А. И., Ступаков Г. П. Минеральный обмен у человека в условиях измененной гравитации // Пробл. космич. биол.—1994.—74.—214 с.
10. Григорьев А. И., Ларина И. М. Принципы организации обмена кальция // Успехи физиол. наук.—1992.—23, № 3.—С. 24—52.
11. Диденко И. Е., Воложин А. И. Минеральный состав минерального компонента костей кроликов при 30 суточной гипокинезии // Космич. биол. и авиакосмич. мед.—1981.—15, № 1.—С. 84—87.
12. Добелис М. А. Влияние невесомости и некоторых ее моделей на механические свойства животных при скручивании // Космич. биол. и авиакосмич. мед.—1985.—19, № 6.—С. 40—45.
13. Кляцкин С. А., Лифшиц П. И. Определение гликозаминогликанов орциновым методом в крови больных // Лаб. дело.—1989.—№ 9.—С. 51—53.
14. Ковалев А. М. Особенности метаболизма коллагена и гликозаминогликанов костной ткани в условиях ограниченной двигательной активности и при физических нагрузках: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1986.—17 с.
15. Колб В. Г., Камышников В. С. Справочник по клинической химии. — Минск, 1982.—311 с.
16. Крель А. А., Фурцева Л. Н. Методы определения оксипролина в биологических жидкостях и их применение в медицинской практике // Вопр. мед. химии.—1968.—14, вып. 6.—С. 635—640.
17. Леонтьев В. К., Петрович Ю. А. Биохимические методы исследования в клинической и экспериментальной стоматологии. — Омск, 1976.—93 с.
18. Никитин В. Н., Перский Е. Э., Утевская Л. А. Возрастная и эволюционная биохимия коллагеновых структур. — Киев: Наук. думка, 1976.—279 с.
19. Оганов В. С., Воронин Л. И., Рахманов А. С. Минеральная плотность костной ткани у космонавтов после полетов длительностью 4, 5-6 месяцев на орбитальной станции «Мир» // Авиакосмич. и экол. медицина.—1992.—№ 5/6.—С. 20—24.
20. Прохончуков А. А. Сравнительное влияние невесомости и искусственной силы тяжести на плотность, содержание золы, кальция и фосфора в обызвествленных тканях // Космич. биол. и авиакосмич. мед.—1980.—14, № 4.—С. 23—25.
21. Прохончуков А. А., Жижина Н. А., Тигранян Р. А. Гомеостаз костной ткани в норме и при экспериментальном воздействии // Пробл. космич. биол.—1984.—49.—200 с.
22. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). — М.: Медицина, 1981.—312 с.
23. Ступаков Г. П., Воложин А. И. Костная система и невесомость // Пробл. космич. биол.—1989.—63.—185 с.
24. Творогова М. Г., Титов В. Н. Щелочная фосфатаза: методические приемы исследования и диагностическое значение

- (Обзор литературы) // Лаб. дело.—1991.—№ 6.—С. 10—17.
25. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз: Пер с нем. — М.: Медицина, 1995.—304 с.
 26. Шандала М. Г., Руднев М. И. Обухан Е. И. Гигиеническая оценка биологических эффектов, наблюдаемых при недостатке кислорода в окружающей среде // Гигиена и санитария.—1983.—№ 9.—С. 65—66.
 27. Beresdorf J. N., Fedarko L. W., Midura R. J. Analysis of the proteoglycans synthesized by human bone cells in vitro // J. Biol. Chem.—1987.—P. 17164—17172.
 28. Heaney R. P. Calcium, bone health and osteoporosis // Bone Mineral Res. Ann.—1986.—4.—P. 225—261.
 29. Frey S. Etude d'une methode l'exploration et du taux normal de l'hydroxyproline due serum // Biochem. and Biophys. ets.—1965.—3, № 2.—P. 446—450.
 30. Kubota M. Study on proliferation and function of periodontal ligament fibroblasts and osteoblastic cells under hypoxia // Kokubyo Gakkai Zasshi.—1989.—56 (4)—P. 473—484.
 31. Lamb I. E. Hypoxia- an anti-deconditioning factor for manned space flight // Acrosp. Med.—1965.—36.—P. 97—100.
 32. Le Blank A. D., Scheider V. S., Evans H., et al. Bone montral loss and recovery after 17 weeks of bed rest // J. Bone and Mineral Res.—1990.—5, N 8.—P. 843—850.
 33. Lueken S. A., Arnaud S. B., Taylor A. K., Baylink D. J. Changes in markers of bone formation and resorption in a bed rest model of weightlessness // J. Bone Mineral Res.—1993.—8, N 12.—P. 1433—1438.
 34. Morey-Holton E. R., Arnaud S. B. Skeletal responses to spaceflight// Advances in space biology and medicine. — N. Y.: JAI press, 1991.—Vol. 1.—P. 37—69.
 35. Morey-Holton E. R., Wronski T. I. Animal models for simulating weightlessness // Physiologist.—1981.—24, N 6.—P. 45—48.
 36. Nishimura Y., Fukuoka H., Kiriyaama M., Suzuki Y. Bone turnover and calcium metabolism during 20 days bed rest in young healthy males and females // Acta physiol. Scand.—1994.—150, suppl., N 616.—P. 27—35.
 37. Rambaut P. C., Johnson P. S. Prolonged weightlessness and calcium loss in man // Acta astronaut.—1979.—6, N 9.—P. 1113—1122.
 38. Stegemann H. J. H. A simple procedure for the determination of hydroxyproline in urine and bone // Biochem. Med.—1952.—N 1.—P. 23—30.
 39. Tuncay O. C., Ho D., Barker M. K. Oxygen tension regulates osteoblast function // Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.—1994.—105 (5)—P. 457—463.
 40. Valias A. C., Lernike R. F., Grindeland R. E. Effects of spaceflight on rat humerus geometry, biomechanics and biochemistry // FASEBJ.—1990.—4, N 1.—P. 47—54.
 41. Wronski T. I., Morey-Holton E. R. Skeletal response to stimulated weightlessness: a comparison of suspension techniques // Aviat. Space and Environ. med.—1987.—58 (1)—P. 63—68.

**EFFECT OF THE INTERMITTENT HYPOXIA
ON THE BONE TISSUE STATE AFTER
MICROGRAVITATION MODELING**

V. A. Berezovskiy, I. G. Litovka,
H. G. Chaka, S. Magomedov, and N. V. Mehed

We studied the influence of low P_O₂ under normal atmospheric pressure on the Ca and P metabolism, bone remodeling markers, and biomechanical properties of the femura bone in rats with their hind limbs unloaded. A hypoxic gas mixture (HGM) was given in intermittent regime A and B for 8 hours/day during 28 days. It was shown that regime A slows down the development of osteopenia and may be used in complex with other rehabilitation procedures for preventing the unloading osteopenia.