

УДК: 613.15:612.014.464-616.71-007.234

И. Г. Литовка

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

Дозированная гипоксия как фактор коррекции остеопении бездействия

Надійшла до редакції 25.06.02

Вивчались особливості впливу нормобаричної газової суміші зі зниженим парціальним тиском кисню на біохімічні показники стану кісткової тканини щурів різного віку з розвантаженням задніх кінцівок. Газова суміш зі зниженим P_{O_2} , яку подавали у переривчастому режимі, активує ремоделювання кісткової тканини щурів і гальмує розвиток деструктивних процесів у більшій мірі у молодих тварин порівняно з дорослими.

ВВЕДЕНИЕ

Установлено, что потеря костной массы и снижение прочности костей скелета в условиях хронической гипокинезии или невесомости носят адаптивный характер, и следовательно, наиболее перспективными методами профилактики этих изменений являются методы адаптационной медицины, связанные с использованием слабых стрессогенных факторов [1, 18].

Опубликованные ранее работы [2—4] и данные других исследователей [13, 16, 18, 20, 21] свидетельствуют о том, что одним из способов влияния на интенсивность общего метаболизма может быть применение дозированных гипоксических воздействий. В ряде работ [11, 24] применялась гипобарическая гипоксия, которая отчетливо стимулирует кроветворение и метаболизм, однако сопровождается и отрицательными последствиями гипобарии. В наших исследованиях использована дозированная нормобарическая гипоксия, исключая возможность побочных эффектов.

Целью работы является изучение воздействия моделированной микрогравитации и способов коррекции возникающих при этом изменений состояния костной ткани у крыс различного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

В двух сериях экспериментов исследовано 96 крыс-самцов линии Вистар с массой тела 140 ± 10 г и 300 ± 10 г. Возраст, соответствующий такой массе тела, составляет 3 и 6 мес. Каждая серия экспериментов состояла из трех групп: I — виварный контроль, II — крысы с безпорным положением задних конечностей в атмосфере воздуха, III — крысы с безпорным положением задних конечностей и воздействием нормобарической газовой среды. Безпорное положение задних конечностей у крыс (рис. 1) второй и третьей групп создавали вывешиванием тазового пояса по методу Морей — Холтон [22]. Парциальное давление кислорода в использованной нами газовой смеси составляло 120 ± 10 мм рт. ст., что соответствует высоте 3000 ± 500 м над уровнем моря. Подачу газовой смеси осуществляли автоматически в прерывистом режиме: 30 мин — подача газовой смеси, 20 мин — подача атмосферного воздуха. Газовую смесь подавали от мембранного генератора горного воздуха типа «Борей» на протяжении 8 часов ежедневно в течение 28 суток. Стандартный корм и воду все группы животных получали без ограничений.

Для исследования процессов ремоделирования

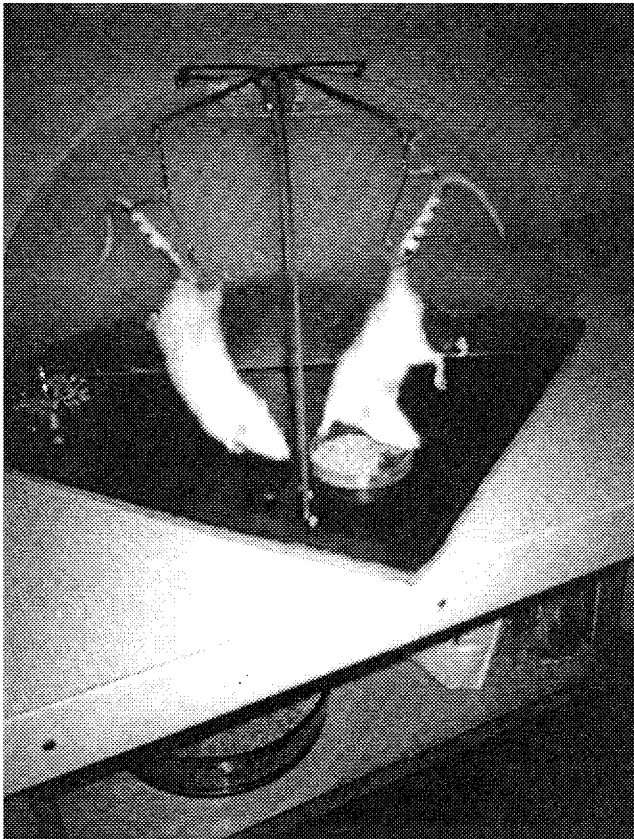


Рис. 1. Устройство для моделирования безопорного положения задних конечностей белых крыс

костной ткани определяли биохимические маркеры активности остеобластов, формирующих новую ткань и остеокластов, осуществляющих их резорбцию. Для этого измеряли в костной ткани и сыворотке крови активность щелочной фосфатазы (ЩФ, К.Ф. 3.1.3.1), общую каталитическую активность кислой фосфатазы (КФ, К.Ф. 3.1.3.2) и тартратрезистентной кислой фосфатазы с помощью стандартных наборов «Лахема» (Брно, Чехия). Обмен протеогликанов оценивали определяя концентрацию гликозаминогликанов (ГАГ) по методу Кляцкина [14]. Статистическую обработку данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что после 28-суточной разгрузки задних конечностей как у взрослых, так и у молодых крыс с безопорным положением задних конечностей существенно нарушается метаболизм гликозаминоглика-

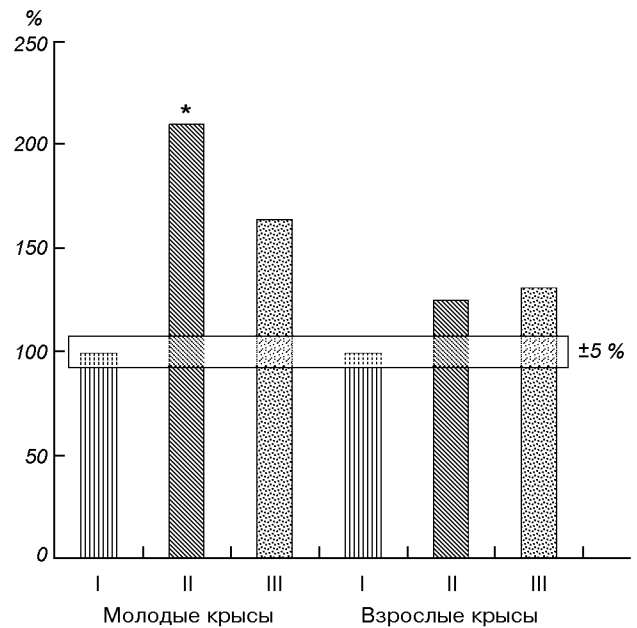


Рис. 2. Концентрация ГАГ в сыворотке крови молодых и взрослых крыс

нов (ГАГ). В сыворотке крови и моче молодых крыс концентрация ГАГ повысилась в 2.1 раза. У взрослых животных с безопорным положением задних конечностей повышение концентрации ГАГ было не столь значительным, однако превышало уровень контрольных животных (рис. 2).

В структуре костной ткани, как известно, основную осевую нагрузку несут кристаллы гидроксиапатита, расположенные в сети коллагеновых волокон. Структура этой сети определяется не только состоянием волокон, но и количеством и качеством поперечных швов между отдельными волокнами. Именно эту функцию выполняют ГАГ. Они участвуют в биосинтезе внутрикостного коллагена, обеспечивают упорядоченность и прочность боковых соединений коллагеновых фибрилл [19]. Кроме того, именно они ориентируют архитектуру пучков волокон в соответствии с направлением основных векторов биомеханической нагрузки. Более низкая ответная реакция ГАГ на моделирование микрогравитации у взрослых животных свидетельствует о том, что их костная ткань в большей степени сохраняет стабильность своей структуры, чем у молодых крыс.

Как показали наши предыдущие исследования [5—8], моделирование микрогравитации в наземных условиях не менее существенно, чем в условиях реального космического полета, изменяет биомеханические свойства костной ткани. Снижается ее минеральная насыщенность, степень минерализа-

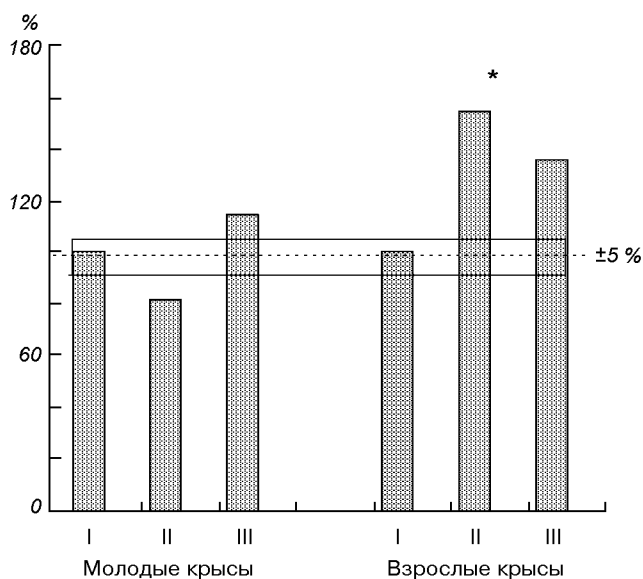


Рис. 3. Активность кислой фосфатазы в сыворотке крови молодых и взрослых крыс

ции, плотность структурной композиции. Достоверно уменьшается несущая способность бедренной кости на 37 %, снижается предел прочности на 31 %, модуль упругости на 53 % и энергия упругой деформации на 43 %. Все эти показатели связаны между собой структурной и функциональной зависимостью, определяющей прочность костной ткани.

У взрослых животных после 28-суточной разгрузки задних конечностей существенно изменялась активность кислой фосфатазы (рис. 3). В сыворотке крови этих крыс активность кислой фосфатазы увеличивалась в 1.5 раза по сравнению с группой контрольных животных. В отличие от взрослых животных в сыворотке крови молодых крыс достоверных изменений кислой фосфатазы не выявлено. Активность тартратрезистентной кислой фосфатазы в сыворотке крови ни у молодых, ни у взрослых крыс не изменялась.

Как показали проведенные нами исследования, достоверных изменений активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови и костной ткани у молодых и взрослых крыс не происходило (рис. 4). Это можно рассматривать как показатель относительной стабильности процессов новообразования костной ткани в условиях моделированной микрогравитации.

Известно, что в физиологических условиях жизнедеятельность костной ткани определяется двумя сбалансированными процессами — остеогенезом и

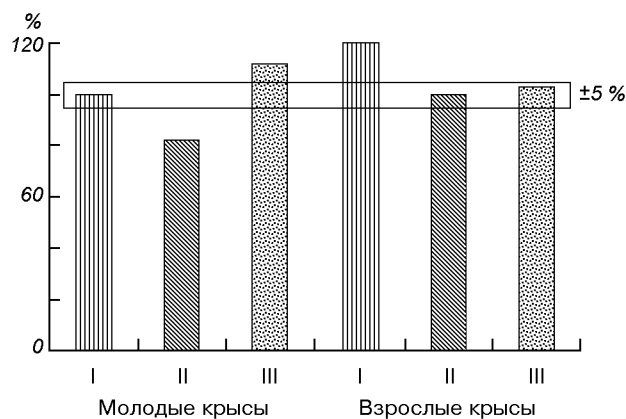


Рис. 4. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови молодых и взрослых крыс

остеодеструкцией. Первый осуществляется остеобластами. Основным биохимическим маркером которых является щелочная фосфатаза. Второй процесс заключается в том, что остеокласты непрерывно разрушают нефункционирующие или устаревшие элементы костной ткани. Биохимическим маркером интенсивности деятельности остеокластов является активность кислой фосфатазы. Основную роль в поддержании баланса остеогенеза и остеодеструкции играют биомеханические стимулы, возникающие при движениях животного. Генерируемые клетками костной ткани биоэлектрические потенциалы являются обязательным компонентом активности метаболизма этой ткани. Отсутствие или резкое снижение амплитуды биомеханических стимулов в условиях микрогравитации нарушает естественный баланс между новообразованием и разрушением костной ткани, с преобладанием процессов резорбции.

В модельных экспериментах лишение взрослых крыс механической опоры задних конечностей приводит к установлению нового баланса между остеогенезом и остеодеструкцией. Повышение активности кислой фосфатазы в сыворотке крови этих животных можно рассматривать как свидетельство преобладания процессов остеодеструкции. Аналогичные изменения отмечены в сыворотке крови старых животных, для которых типично развитие состояния, сходного с развитием возрастного остеопороза человека.

У молодых крыс с сочетанным действием безопорного положения задних конечностей и активизирующей газовой смеси все исследованные биохимические показатели практически не отличались от виварного контроля. Это позволяет нам сделать вывод о том, что газовая смесь нормализовала

соотношение процессов остеогенеза и остеодеструкции у молодых животных, несмотря на разгрузку задних конечностей. Взрослые крысы в аналогичных условиях сочетанного действия двух факторов в меньшей степени реагировали на стимулирующее действие газовой смеси. В этой группе животных отмечена лишь тенденция к снижению активности кислой фосфатазы, что можно рассматривать как признак некоторого торможения активности остеокластов. Вместе с тем у взрослых животных концентрация ГАГ после воздействия газовой смеси оставалась повышенной, что можно отнести за счет возрастного снижения интенсивности метаболизма по сравнению с молодыми крысами.

Полученные результаты хорошо согласуются с представлениями об активирующих возможностях дозированного снижения парциального давления кислорода. Процессы адаптивной активации происходят во всех тканях организма, в том числе в костном мозге и костной ткани пропорционально интенсивности их аэробного метаболизма. Анализ полученных нами данных позволяет говорить о том, что активность биохимических реакций и скорость перестройки костной ткани у крыс отражает общую закономерность активации метаболических процессов в организме при воздействии активирующей гипоксии. Интенсивность этого процесса зависит от парциального давления кислорода во вдыхаемой смеси, общей продолжительности гипоксических экспозиций, длительности и числа периодов гипоксической респирации, соотношения длительности дыхания гипоксической смесью и атмосферным воздухом [9, 10], степени гипокинезии и ее длительности. Как показали наши исследования, одним из факторов, определяющих реакцию организма, является возраст животного.

Использование принципа стимуляции метаболизма дозированным снижением парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе открывает возможность широкого варьирования амплитуды и длительности гипоксического стимула, соотношения длительности стимулов и пауз нормоксической респирации и общего времени экспозиции. Варьируя этими параметрами, можно достичь различной степени воздействия на процессы остеогенеза и остеодеструкции, нормализовать физиологическое ремоделирование костной ткани в условиях гипокинезии, реальной и моделируемой микрогравитации.

ВЫВОДЫ

1. В условиях 28-суточного безопорного положения задних конечностей биохимические показатели ко-

стной ткани взрослых крыс ухудшаются в большей степени, чем у молодых животных.

2. У молодых животных с безопорным положением задних конечностей, вдыхавших гипоксическую газовую смесь с пониженным парциальным давлением кислорода, происходит практически полная компенсация негативных последствий дефицита нагрузки.

3. Варьируя параметрами нормоксического гипоксического стимула можно добиться различной степени воздействия на физиологическую резорбцию и ремоделирование костной ткани при дефиците функциональной нагрузки.

1. Аврунин А. С., Корнилов Н. В., Суханов А. В., Емельянов В. Г. Формирование остеопоротических сдвигов в структуре костной ткани. — С-Пб: Ольга, 1988.—68 с.
2. Астахова В. С., Березовский В. Я., Панченко Л. М., Хасабова И. А. Клонування стромальних клітин-попередників кісткового мозку людини за умов зниженого парціального тиску кисню // Фізіол. журн.—2001.—47, № 1 (частина 2).—С. 40—44.
3. Березовский В. А., Дейнега В. Г. Физиологические механизмы саногенных эффектов горного климата. — Киев: Наук. думка, 1988.—222 с.
4. Березовский В. А., Левашов М. И. Физиологические предпосылки и механизмы нормализующего действия нормобарической гипоксии и оротерапии // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова.—1992.—38, № 5.—С. 3—12.
5. Березовский В. Я., Литовка И. Г., Чака О. Г. Вплив дозованої гіпоксії на розвиток ситуативної остеопенії // Фізіол. журн.—2000.—46, № 1.—С. 10—16.
6. Березовский В. Я., Литовка И. Г., Чака О. Г., Лахин П. В. Вплив зниженого P_{O_2} на модуляцію остеодистрофії у шурів за різних статокінетичних умов // Фізіол. журн.—2001.—47, № 1 (частина 2).—С. 50—54.
7. Березовский В. А., Литовка И. Г., Чака Е. Г. и др. Биофизическая стимуляция остеогенеза // Пробл. остеологии.—1999.—2, № 2.—С. 12—15.
8. Березовский В. А., Литовка И. Г., Чака Е. Г. и др. Влияние дозированной гипоксии на метаболизм костной ткани в условиях осевой разгрузки задних конечностей // Космічна наука і технологія.—2000.—6, № 2/3.—С. 77—84.
9. Волков Н. И. Современные методы гипоксической тренировки в спорте // 3-й Междунар. конгресс «Теория деятельности и социальная практика», Москва, 26—29 июня 1995 г. — М.: Физкультура, образование, наука, 1995.—С. 27.
10. Волков Н. И., Бровко А. П., Фефилачев Л. П., Бугаев С. А. Физиологические эффекты прерывистой гипоксии // Российский конгресс по патофизиологии. Патофизиология органов и систем. Типовые патофизиологические процессы (экспериментальные и клинические аспекты). — М.: РГМУ, 1996.—С. 117.
11. 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.
12. Капланский А. С., Дурнова Г. Н., Сахарова З. Ф., Ильина-Какуева Е. И. Гистоморфологический анализ костей крыс, находившихся на борту биоспутника «Космос-1667» // Космич. биол. и авиакосмич. мед.—1987.—21, № 2.—С. 5—31.
13. Караш Ю. М., Стрелков Р. Б., Чижов А. Я. Нормобариче-

- ская гипоксия в лечении, профилактике и реабилитации. — М., 1988.—351 с.
14. Кляцкин С. А., Лифшиц П. И. Определение гликозаминогликанов орциновым методом в крови больных // Лаб. дело.—1989.—№ 9.—С. 51—53.
 15. Коваленко Е. А., Гуровский Н. Н. Гипокинезия. — М.: Медицина, 1980.—320 с.
 16. Колчинская А. З. Кислород. Физическое состояние. Работоспособность. — Киев: Наук. думка, 1991.—208 с.
 17. Меерсон Ф. З., Твердохлиб В. П., Боев В. М., Фролов В. А. Адаптация к периодической гипоксии в терапии и профилактике. — М.: Наука, 1989.—228 с.
 18. Оганов В. С. Гипокинезия — фактор риска остеопороза // Остеопороз и остеопатии.—1988.—№ 1.—С. 13—17.
 19. Оганов В. С., Брик А. Б., Шербина О. И. и др. О влиянии дефицита опорной нагрузки на взаимосвязь «коллаген-кристалл» в костной ткани крыс по данным ЭПР // Матер. XII конф. по космич. биологии и авиакосмич. медицине. — М., 2002.—С. 255—256.
 20. Сметанин В. Я. Воздействие различных режимов интервальной гипоксической тренировки на кардиореспираторные и гематологические функции // Физиология человека.—2000.—26, № 4.—С. 73—82.
 21. Стрелков Р. Б., Чижов А. Я. Прерывистая нормобарическая гипоксия в профилактике, лечении и реабилитации. — Екатеринбург: Уральский рабочий, 2001.—400 с.
 22. Morey-Holton E. R., Wronski T. I. Animal models for simulating weightlessness // *Physiologist*.—1981.—24, N 6.—P. 45—48.
 23. Nishimura Y., Fukuoka H., Kiriyama 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.
 24. Rambaut P. C., Johnson P. S. Prolonged weightlessness and calcium loss in man // *Acta astronaut.*—1979.—6, N 9.—P. 1113—1122.
-
- DOSED HYPOXIA CORRECTION EFFECT ON THE WEIGHTLESSNESS OSTEOPENIA**
- I. G. Litovka
- We investigated the influence of a dosed condition regime of breathing the artificial gaz mixture with a lower P_{O_2} at the normal atmospheric pressure on the biochemical indices of bones after axial unloading of rear extremities of rats of different age. The gaz mixture with a lower oxygen content supplied in the faltering regime activizes the rat bone tissue remodeling and hinders the destructive processes to a greater extent in young animals compared to adult ones.