

УДК 613.15:612.014.464-616.71-007.234

І. Г. Літовка

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

Ремоделювання кісткової тканини у низько- і високоактивних щурів в умовах 45-добової гіпокінезії та впливу дозованої кисневої депривації

Надійшла до редакції 12.05.03

Вивчали особливості впливу нормобаричної гіпоксичної газової суміші зі зниженим парціальним тиском кисню на біохімічні показники стану кісткової тканини щурів різного віку з обмеженням рухливості. Газова суміш зі зниженим P_{O_2} , яку подавали в переривчастому режимі, активує ремоделювання кісткової тканини щурів і гальмує розвиток деструктивних процесів більшою мірою у молодих тварин порівняно з дорослими.

ВСТУП

Відомо, що стресові фактори можуть чинити негативний вплив на органи і системи ссавців. В умовах хронічної гіпокінезії або невагомості найбільше страждає опорно-рухова система: втрачається кісткова маса, зменшуються механічні властивості кісток скелета [4, 7]. В наземних модельних експериментах можна не тільки дослідити в динаміці розвиток компенсаторно-приспосувальних реакцій до впливу гіпокінезії, але й перевірити ефективність методів запобігання негативним наслідкам обмеження рухливості.

В наших попередніх дослідженнях показано, що нормобарична гіпоксична газова суміш (НГС) гальмує розвиток біохімічних і біомеханічних проявів деструкції кісткової тканини при розвантаженні задніх кінцівок [5] і обмеженні рухливості [6], тобто здійснює нормалізуючий вплив [2, 3].

Метою даної роботи є дослідження фенотипових особливостей спонтанної рухової активності щурів на ефекти дії нормобаричної гіпоксичної газової суміші з помірно зменшеним парціальним тиском кисню на остеодистрофію, що виникає у молодих і дорослих щурів з обмеженням рухливості протягом 45 діб.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

В двох серіях експериментів досліджено 48 щурів-самців лінії Вістар віком 3 і 6 місяців. У молодих і дорослих щурів визначали ступінь прояву спонтанної рухової активності по кількості обертів колеса ротаційного тредбану за 3 хвилини. Кожна серія експерименту складалася з трьох груп: I — віварний контроль, II — щури з обмеженням рухливості в атмосферному повітрі і III — з обмеженням рухливості в НГС зі зниженим парціальним тиском кисню ($P_{O_2} = 100...110$ мм рт. ст.) Нормобаричну гіпоксичну газову суміш подавали автоматично в переривчастому режимі: 20 хв — НГС, 20 хв — атмосферне повітря, щоденно по 8 годин протягом 45 діб. Режим обмеження рухливості відповідав співвідношенню площі опори тіла тварини та площі комірки 1 : 1. Такий режим утримання ми розглядали як найбільш жорсткий ступінь впливу гіпокінезії. Основні біохімічні показники метаболічної активності кісткової тканини одержували за допомогою спектрофотометричних та імуноферментних методів. Статистичну обробку даних проводили за методом Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених експериментів показали, що у молодих щурів, які дихали атмосферним повітрям протягом 45 діб, найістотніше змінювалися біохімічні показники сироватки крові. В першу чергу це стосується активності кислої фосфатази (КФ) і тартратрезистентної кислої фосфатази (ТРКФ), які збільшувалися в 2.1 і 3.2 рази відповідно ($P < 0.05$). Концентрація глікозаміногліканів (ГАГ) достовірно зменшилася у 1.7 рази, а паратиреоїдного гормону (ПТГ) — мала тенденцію до збільшення. Активність лужної фосфатази (ЛФ) у кістковій тканині молодих щурів з обмеженням рухливості в атмосферному повітрі достовірно збільшилася у 1.7 рази, а КФ — достовірно зменшилася у 2.2 рази.

Більшість досліджуваних показників у тварин з обмеженням рухливості, які дихали НГС зі зменшеним P_{O_2} , не відрізнялися від контрольних значень, незважаючи на високий ступінь гіпокнезії. Винятком були лише активність ЛФ у сироватці крові щурів (була зменшеною у 1.5 рази) та концентрація ПТГ, яка достовірно збільшилася у 2.1 рази.

В дослідженні дорослих щурів з обмеженням рухливості в атмосферному повітрі протягом 45 діб ми не отримали таких чітких однозначних даних по змінам біохімічних показників ремодельовання у сироватці крові та кістковій тканині, які були відзначені у молодих і дорослих тварин протягом 28 діб [6]. У щурів після 45-добового обмеження рухливості в атмосферному повітрі не відзначено збільшення активності лізосомальних ферментів ні в сироватці крові, ні в кістковій тканині. Концентрація ГАГ теж істотно не змінювалася. Проте збільшувалася концентрація ПТГ у сироватці крові та зменшувалася активність ЛФ у кістковій тканині. Це може свідчити про наявність активних процесів резорбції кісткової тканини у цих тварин.

У дорослих щурів з обмеженням рухливості, що перебували в НГС, резорбція кісткової тканини більше виражена. Про це свідчить достовірне збільшення активності КФ у 1.5 рази у сироватці крові та концентрації ГАГ у 1.3 рази ($P < 0.05$), збільшення ПТГ, зменшення вмісту глюкуронових кислот у кістковій тканині.

Відсутність чіткого позитивного ефекту від застосування НГС протягом 45 діб у дорослих щурів і наявність цього ефекту у молодих тварин спонукала нас перевірити, чи залежить ефект від фенотипових варіацій спонтанної рухової активності. Для цього ми тричі визначали індивідуальний руховий фенотип у кожної тварини в ротаційному тредбані

з пасивним обертанням колеса. Середньоарифметичний показник для групи молодих щурів в цілому становив 6.3 ± 0.57 , для дорослих — 5.3 ± 0.64 . Якщо кількість обертів колеса була більшою за 6.87 (для молодих) і 5.94 (для дорослих), то таких тварин відносили до високорухливих, а якщо нижчою за 5.73 (для молодих) і 4.56 (для дорослих) — до низькорухливих. За результатами спонтанної рухової активності ми одержали можливість розділити тварин на низько- і високоактивних. Для кожної підгрупи були створені такі ж умови, як і для групи в цілому. Встановлено, що у молодих низькоактивних щурів з обмеженням рухливості в атмосферному повітрі активність ЛФ у сироватці крові збільшується у 1.6 рази, КФ — у 2 рази; ТРКФ — у 3.1 рази.

Концентрація ГАГ зменшується у 2.3 рази, а ПТГ зростає в 1.7 рази. Зміна атмосферного середовища на НГС призводить до нормалізації всіх показників у молодих щурів з низькою активністю.

У високоактивних молодих щурів з обмеженням рухливості в середовищі атмосферного повітря направленість зміни лізосомальних ферментів і активності ЛФ була такою ж, як і у низькоактивних. Рівень ГАГ і ПТГ не змінювався порівняно з контрольними величинами. Заміна природного середовища на НГС повернула активність досліджуваних ферментів до контрольних значень, а от концентрація ГАГ збільшилася у 1.5 рази, ПТГ — у 2 рази. Таким чином, 45-добове обмеження рухливості в умовах періодичного дихання НГС сприймається молодими низькоактивними тваринами значно краще, ніж високоактивними. Але вплив НГС на високоактивних тварин теж можна оцінити як позитивний.

У дорослих низькоактивних тварин з обмеженням рухливості, що перебували протягом 45 діб в природному середовищі, досліджувані біохімічні маркери в сироватці крові не змінювалися, за виключенням концентрації ПТГ, що збільшилася у 1.6 рази порівняно з контролем і ще більше збільшилася (у 1.9 рази) при зміні атмосферного повітря на НГС. Також при зміненому газовому середовищі збільшилася активність КФ (у 1.5 рази порівняно з контролем).

Тривале обмеження рухливості в середовищі атмосферного повітря у дорослих високоактивних щурів не викликає особливих змін біохімічних маркерів у сироватці крові. Спостерігали тенденцію до збільшення концентрації ПТГ. Вдихання НГС цими тваринами збільшує концентрацію ГАГ у 1.6 рази та ПТГ у 1.5 рази.

Таким чином, дорослі низькоактивні та високоактивні щури однаково реагували на 45-добове обме-



Схема компенсуючої дії дозованої гіпоксії на остеодистрофічні зміни стану кісток при гіпокінезії у молодих щурів

ження рухливості в атмосферному повітрі і НГС.

Аналіз наведених даних свідчить, що молоді щури чутливіші до 45-добового перебування в стані гіпокінезії порівняно з дорослими тваринами. Це підтверджують негативні зміни біохімічних маркерів кісткової тканини. Застосований у цих експериментах режим дозованої переривчастої гіпоксії запобігає виникненню деструктивних змін у стегнових кістках молодих щурів. У дорослих щурів лише збільшення концентрації ПТГ (у низькоактивних і високоактивних щурів) і зменшення активності ЛФ

у кістковій тканині в цілому по групі вказує на наявність активних процесів резорбції кістки. Застосування НГС для цієї групи тварин не дало чіткого позитивного ефекту.

Одержані факти можна тлумачити з різних точок зору. У молодих щурів водночас відбуваються два процеси: відновлення і резорбції кісткової тканини. В умовах обмеження рухливості в атмосферному повітрі збільшується активність клітин, що продукують КФ. Це свідчить про остеокластичний тип резорбції кісткової тканини [1]. В даному випадку НГС, якою замінюють атмосферне повітря, компенсує недостатність механічної стимуляції остеогенезу і позитивно впливає на експресію остеобластів, та кисень-залежні механізми [8, 9]. Таким чином, дозована гіпоксична стимуляція посилює функціональний зв'язок між органічним матриксом і відновленими мінеральними компонентами (схема).

У дорослих тварин, вірогідно, існує сталий баланс між процесами відновлення і резорбції кісткової тканини, який лише один стресогенний фактор — обмеження рухливості не може порушити. Сполучна дія двох адитивних стресогенних факторів порушує цю рівновагу [10, 11]. Це призводить до чіткого розвитку остеодистрофічних процесів у кістковій тканині. Не виключено, що обмеження постачання клітин киснем у малих дозах діє як стимулятор остеосинтетичних процесів, а у великих — пригнічує його. Подальші дослідження мають уточнити межу позитивної дії гіпоксії і розробити досконаліші режими кисневої стимуляції процесів фізіологічного відновлення кісткової тканини.

ВИСНОВКИ

1. При диханні атмосферним повітрям обмеження рухливості щурів протягом 45 діб погіршує біохімічні показники ремоделювання кісткової тканини у молодих тварин у більшій мірі, ніж у дорослих.
2. У молодих тварин з обмеженням рухливості в гіпоксичному газовому середовищі зі зниженим парціальним тиском кисню ($P_{O_2} = 100...110$ мм рт. ст.) досягається високий ступінь компенсації негативних наслідків гіпокінезії.
3. Гіпоксична газова суміш зі зниженим P_{O_2} (100...110 мм рт. ст.) посилює негативні процеси в кістковій тканині дорослих щурів з обмеженням рухливості протягом 45 діб.
4. У молодих щурів з високою спонтанною руховою активністю вплив 45-добової гіпокінезії в умо-

вах періодичного дихання гіпоксичною газовою сумішшю завдає різкіших негативних змін біохімічних маркерів стану кісткової тканини.

5. Варіюючи параметрами нормобаричного гіпоксичного стимулу, можна досягти різного ступеня впливу на фізіологічну резорбцію і ремоделювання кісткової тканини при обмеженні рухливості у щурів.

1. Аврунин А. С., Корнилов Н. В., Суханов А. В., Емельянов В. Г. Формирование остеопоротических сдвигов в структуре костной ткани. — С-Пб: Ольга, 1998.—68 с.
2. Березовский В. А., Дейнега А. Г. Физиологические механизмы саногенных эффектов горного климата. — Киев: Наук. думка, 1988.—222 с.
3. Березовский В. А., Левашов М. И. Физиологические предпосылки и механизмы нормализующего действия нормобарической гипоксии и оротерапии // Физиол. журн. СССР.—1992.—38, № 5.—С. 3—12.
4. Григорьев А. И., Воложин А. И., Ступаков Г. П. Минеральный обмен у человека в условиях измененной гравитации // Проблемы космич. биологии. — М.: Наука, 1994.—74.—214 с.
5. Литовка И. Г. Дозированная гипоксия как фактор коррекции остеопении бездействия // Космічна наука і технологія.—2002.—8, № 4.—С. 81—85.
6. Літовка І. Г., Березовська О. П. Киснева депривація як ініціатор остеогенезу при гіпокінезії // Фізіол. журн.—2003.—49, № 2.—С. 58—65.
7. Оганов В. С. Гипокинезия — фактор риска остеопороза // Остеопороз и остеопатии.—1988.—№ 1.—С. 13—17.

8. Prabhakar N. R. Physiological and genomic consequences of intermittent hypoxia // J. Appl. Physiol.—2001.—90, N 5.—P. 1986—1994.
9. Premkumar D. R. Intracellular pathways linking hypoxia to activation of c-fos and AP-1 // Adv. Exp. Med. Biol.—2000.—N 475.—P. 101—109.
10. Semenza G. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia // Cell.—2000.—88, N 4.—P. 1474—1480.
11. Wykoff C. C., Pugh C. W., Maxwell P. H., Harris A. L. Identification of novel hypoxia dependent target genes of the von Hippel-Lindau (VHL) tumor suppressor by mRNA differential expression profiling // Oncogene.—2000.—N 19.—P. 6297—6305.

THE REMODELLING OF BONE TISSUE FOR LOW- AND HIGH-ACTIVITY RATS UNDER A 45-DAY HYPOKINESY AND THE INFLUENCE OF MEASURED OXYGEN DEPRIVATION

I. G. Litovka

We investigate the influence of the normobaric gaz mixture with lowered $P_{O_2} = 100...110$ mm Hg on the biochemical markers of the bone metabolism for rats with limited mobility. The gaz mixture with a lowered oxygen content supplied in the faltering regime activizes the rat bone tissue remodelling and hinders the development of destructive processes for young animals to a greater extent than for adult ones.