

В.Я. Березовський, О.Г. Чака, П.В. Лахін

Вплив кисневої депривації на розвиток остеодистрофії при дефіциті навантаження

Изучали влияние гипоксической газовой смеси (ГГС) на биомеханические свойства бедренных и большеберцовых костей животных после 28 сут разгрузки задних конечностей. Эксперименты проведены на крысах двух возрастных групп: 3- и 6-месячных. Показано, что у молодых крыс, дышавших атмосферным воздухом, под влиянием 28-суточной разгрузки задних конечностей происходит более значительное снижение показателей биомеханических свойств бедренных и большеберцовых костей по сравнению со взрослыми животными. При периодическом вдыхании ГГС 3-месячными крысами с разгрузкой задних конечностей показатели биомеханических свойств оставались близкими к контрольным значениям. У 6-месячных животных в аналогичных условиях нормализующее действие кислородной депривации было менее выраженным. Следовательно, костная ткань молодых животных более чувствительна к внешним патологическим воздействиям, чем у взрослых животных. Это различие может быть обусловлено замедлением скорости ремоделирования костной ткани у взрослых животных.

ВСТУП

Суттєве зниження фізичного навантаження в повсякденному житті сучасної людини створює передумови розвитку остеодистрофії й остеопорозу не тільки у людей похилого віку, а й у молодих осіб [7,10,11]. У разі зниження механічного навантаження на опорно-руховий апарат для активації процесів ремоделювання необхідні додаткові стимули. Одним із таких стимулів може бути періодичне дозоване зниження парціального тиску кисню (P_{O_2}) у повітрі, яким дихають [1,9,13]. Дихання гіпоксичною газовою сумішшю (ГГС) широко використовується в медичній практиці як чинник, котрий підвищує загальну неспецифічну резистентність організму, поліпшує розумову та фізичну працездатність [2]. Дослідження, проведені на іммобілізованих щурах показали, що перебування їх у барокамері на імітованій висоті 4 – 5 км нормалізує концентрацію Са і Р у кістковій тканині, збільшує приріст

маси тіла, стимулює збільшення поздовжніх розмірів кісток скелета [5]. Водночас підйом на імітовану висоту 7 км по 40 хв протягом 30 діб викликав зниження приросту маси кісток, гальмував періостальне кісткоутворення [3]. Таким чином, вплив кисневої депривації на кісткову тканину може мати діаметрально протилежну дію, що потребує подальших досліджень.

Метою нашої роботи було вивчити вплив періодичного зниження P_{O_2} на перебіг остеодистрофії у щурів різного віку за умов розвантаження задніх кінцівок.

МЕТОДИКА

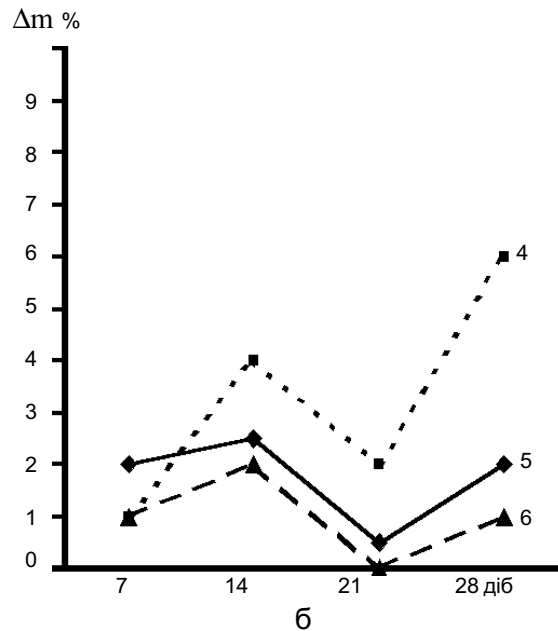
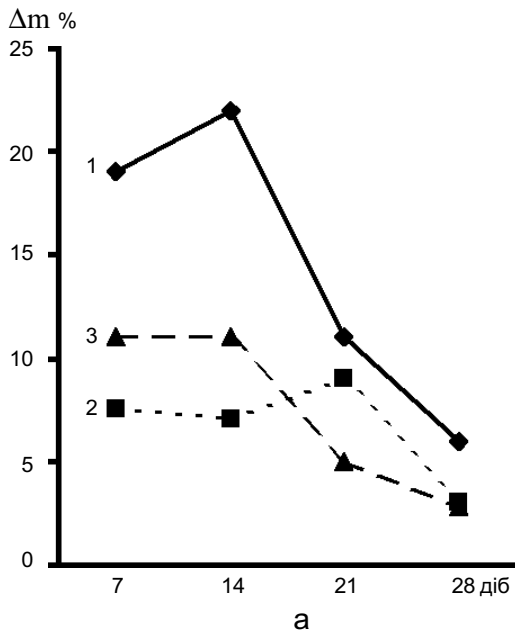
Проведено дві серії досліджень на 92 щурах-самцях лінії Вістар. У першій серії використовували 68 тварин віком 3 міс (I – III групи). У другій – 24 тварини віком 6 міс (IV – VI групи). Розвантаження задніх кінцівок створювали за методом Морей – Холтон [12] у власній модифікації. Щурів роз-

ділили на шість груп: I, IV – віварійний контроль, II, V – щури з розвантаженням задніх кінцівок, які дихали атмосферним повітрям, III, VI – щури з розвантаженням задніх кінцівок, які періодично дихали ГГС з PO_2 110 – 120 мм рт. ст. Тривалість експерименту становила 28 діб. ГГС подавали щодобово по 8 год на добу, у переривчастому режимі: 20 хв – ГГС, 20 хв – атмосферне повітря. Щотижня контролювали масу тіла тварин. Щурів декапітували під рауш-наркозом. Скелетовані стегнові та великогомілкові кістки зневоднювали і знежирювали у суміші спирту з ефіром (3:1). Об'ємно-ваговим методом визначали об'єм кісток і розраховували їх щільність. Діафізи й епіфізи стегнових кісток спалювали в муфельній печі при $700^{\circ}C$. Отриману золу зважували і визначали мінеральну насиченість (МН) і зольність (ЗЛ) кісткової тканини. Визначення біомеханічних властивостей стегнових і великогомілкових кісток на вигин за триточковою схемою навантаження проводили на розривній машині МР-200. Будували графік залежності деформації від

навантаження. За допомогою отриманих кривих розраховували несучу здатність, жорсткість, межу міцності, модуль пружності, енергію пружної деформації кісткової тканини [4]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію *t* Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведеного дослідження показали, що розвантаження задніх кінцівок гальмує темпи приросту маси тіла щурів. Особливо яскраво це проявилось у 3-місячних тварин (рисунок). Так, у контрольних щурів цього віку приріст маси тіла спостерігали протягом усього експерименту. За 4 тиж (по тижнях) він становив 19, 22, 11 і 6 % відповідно. Всього за 28 діб маса тіла контрольних тварин збільшилася на 61 %. У тварин II групи приріст маси тіла за 4 тиж склав 26 %, а у тварин III групи – 30 %. Тобто, у дослідних щурів приріст маси тіла за 28 діб експерименту був на 30 % меншим, ніж у контрольних тварин.



Приріст маси тіл контрольних (I, IV) і дослідних (II, III, V) щурів різного віку: а – 3 міс, б – 6 міс; 1 – I група, 2 – II група, 3 – III група, 4 – IV група, 5 – V група, 6 – VI група.

У 6-місячних щурів контрольної групи збільшення маси тіла за 28 днів було незначним (6 %). У дослідних тварин V і VI групи практично не виявлено збільшення маси тіла за весь термін експерименту (див. рисунок). Це відповідає даним літератури про уповільнення приросту маси тіла щурів з віком. Дослідники вказують [14], що у перші 6 міс життя маса тіла лінійно збільшується на 50 г за місяць. Після цього ріст маси тіла знижується і складає лише 50 – 60 г за рік, тобто темпи приросту маси тіла зменшуються у 12 разів.

Розвантаження задніх кінцівок гальмувало ріст стегнових і великогомілкових кісток, що виявлялося в зниженні їх маси та об'єму. Таке зниження спостерігалось у 3- і 6-місячних щурів. Маса стегнових і великогомілкових кісток у тварин II і V груп була нижчою на 12 і 10 % відповідно порівняно з контролем. У тварин, які дихали ГГС в обох серіях експерименту маса кісток задніх кінцівок вірогідно не відрізнялася від контрольних значень. Це свідчить про стабілізуючу дію дозованого зниження P_{O_2} на процеси ремоделювання кісткової тканини.

Зменшення маси та об'єму стегнових кісток закономірно зменшувало їх щільність, МН і ЗЛ. Вимірювання цих показників окремо в діафізах і епіфізах показало, що в різних ділянках стегнової кістки процеси остеодистрофії розвиваються нерівномірно. У діафізах не відбувалося вірогідного зниження щільності, МН і ЗЛ у щурів всіх експериментальних груп. Це може бути пов'язано з тим, що за умов розвантаження гальмуються як процеси синтезу, так і резорбції кістки. Внаслідок цього збільшується частка старої кісткової тканини з високим ступенем мінералізації, що призводить до відносного збільшення вмісту високомінералізованих структур [9]. Це відповідає гістологічним дослідженням, котрі проводилися на тваринах після польотів на біосупутниках [4,8].

В епіфізах стегнових кісток у щурів з розвантаженням задніх кінцівок в атмосфері повітря зареєстровано вірогідне зниження щільності, МН і ЗЛ. Так, у молодих щурів II групи щільність епіфізів була на 10 % , а МН – на 23 %, ЗЛ – на 15 % меншою порівняно з контролем. У 6-місячних тварин V групи ці показники знизилися на 10, 27 і 18 % відповідно. Таке істотне зниження щільності, МН і ЗЛ може бути пов'язане як з прискоренням резорбції, так і з порушенням процесів мінералізації, що регулюються механічним навантаженням.

Дихання ГГС нормалізувало щільність, МН і ЗЛ епіфізів стегнових кісток щурів з розвантаженням задніх кінцівок. У 3-місячних щурів III групи ЗЛ і МН епіфізів були на 10 і 13 % більшими порівняно з такими показниками у щурів II групи, а щільність не відрізнялася від показників тварин II групи. У 6-місячних щурів VI групи ЗЛ і МН епіфізів перевищувала відповідні показники щурів V групи на 9%. Нормалізації щільності епіфізів у цих тварин, як і у 3-місячних щурів не відбувалося. Порівняння значень щільності, МН і ЗЛ стегнових кісток у 3- і 6-місячних щурів показує, що з віком ці показники збільшуються як у діафізах, так і в епіфізах, що добре узгоджується з літературними даними про підвищення ступеня мінералізації кісткової тканини з віком [4].

Вимірювання біомеханічних властивостей стегнових і великогомілкових кісток на вигин показали, що у 3-місячних щурів, які знаходилися в стадії активного росту, після 28 днів розвантаження задніх кінцівок в атмосфері повітря, несуча спроможність стегнових кісток достовірно знизилася на 37 %, великогомілкових – на 24 %, межа міцності на 31 і 30 % відповідно. Модуль пружності знизився на 53 % як у стегнових, так і у великогомілкових кістках (таблиця) енергія пружної деформації зменшилася на 43 і 38 % відповідно.

**Показники біомеханічних властивостей стегнових і великогомілкових кісток
у контрольних і експериментальних тварин (M±m)**

Показник	I група (n=24)	II група (n=16)	III група (n=16)	IV група (n=8)	V група (n=8)	VI група (n=8)
Стегнові кістки						
Несуча спроможність, кгс	8,71±0,46	5,53±0,49*	6,69±0,76*	18,28±0,81	16,56±1,20	14,04±1,24*
Жорсткість, кгс/мм	15,70±0,97	13,23±1,25	13,62±1,91	20,77±2,02	21,64±1,54	20,42±0,93
Енергія пружної деформації, кгс•мм	2,60±0,18	1,48±0,18*	1,82±0,28	8,09±0,54	6,45±0,71	4,98±0,75*
Межа міцності, кгс/мм ²	14,80±0,98	10,27±0,98*	12,10±1,91	18,68±1,79	16,81±1,32	15,56±1,88
Великогомілкові кістки						
Несуча спроможність, кгс	7,58±0,31	5,76±0,30*	6,64±0,29*	15,48±0,85	12,34±0,46*	14,33±0,94
Жорсткість, кгс/мм	12,19±0,90	14,61±1,34	11,72±1,13	21,14±1,84	20,69±1,87	21,65±1,37
Енергія пружної деформації, кгс•мм	2,33±0,21	1,49±0,23*	2,17±0,25	5,87±0,47	3,76±0,27*	4,89±0,67
Межа міцності, кгс/мм ²	24,90±1,73	17,56±1,37*	20,61±1,30	33,17±1,93	27,80±1,26	29,84±1,96

* вірогідні зміни порівняно з контролем.

Жорсткість стегнових і великогомілкових кісток у досліджуваних тварин вірогідно не змінювалася. У щурів III групи, які дихали ГГС у переривчастому режимі, показники біомеханічних властивостей стегнових і великогомілкових кісток були вищими і наближалися до контрольних значень, ніж у щурів, котрі дихали атмосферним повітрям. Несуча спроможність стегнових кісток щурів цієї групи знизилася на 23% щодо контролю і була на 14% вищою, ніж у щурів II групи. Енергія пружного деформування перевищувала значення, зареєстровані у щурів II групи на 23%, межа міцності на 18%, модуль пружності на 45%.

У великогомілкових кістках щурів III групи вірогідного зниження модуля пружності, межі міцності, енергії пружної деформації не відзначено, а несуча спроможність знизилася на 13% відносно аналогічних значень контрольної групи (див. таблицю). Таким чином, дихання ГГС у переривчастому режимі сприяло нормалізації біомеханічних властивостей стегнових і великогомілкових кісток у 3-мі-

сячних щурів з розвантаженням задніх кінцівок.

У 6-місячних тварин V групи несуча спроможність, жорсткість і межа міцності стегнових кісток вірогідно не відрізнялися від контрольних значень, а для великогомілкових – відзначено зниження цих показників на 20%. Енергія пружного деформування зменшилася на 21% для стегнових кісток і на 36% для великогомілкових. Модуль пружності знизився на 20 і 53% відповідно (див. таблицю). Поліпшення біомеханічних властивостей стегнових кісток у 6-місячних щурів V групи під впливом дихання ГГС не відбувалося. Проте у цієї групи тварин відзначено нормалізацію біомеханічних властивостей великогомілкових кісток. Несуча спроможність цих кісток щурів V групи була на 13% вищою, ніж у щурів IV групи, енергія пружного деформування на 19%, модуль пружності на 32% (див. таблицю).

Отримані нами результати свідчать, що кісткова тканина 3-місячних щурів швидше реагує на розвантаження, ніж 6-місячних тварин. У молодих щурів від-

бувалося істотне зниження біомеханічних властивостей кісток задніх кінцівок, що вказує на зниження здатності кістки опиратися деформації. Водночас у дорослих щурів показники біомеханічних властивостей стегнових і великогомілкових кісток знижувалися значно менше. Можливо, при збільшенні терміну експозиції відповідні зміни відбудуться і у кістковій тканині дорослих тварин. Аналогічні відмінності у змінах міцності та жорсткості кістки в молодих і дорослих щурів спостерігали після їх 14-добового перебування за умов космічного польоту [14]. Нормалізуючий вплив дихання ГГС у переривчастому режимі також був більш значним у молодих тварин порівняно з дорослими. Таким чином, кісткова тканина молодих тварин, яка знаходиться в стані активного росту, більш чутлива до дії гравітаційних впливів і кисневої депривації, ніж дорослих щурів.

ВИСНОВКИ

1. Розвантаження задніх кінцівок в атмосфері повітря вірогідно знижує несучу спроможність, межу міцності, модуль пружності, енергію пружного деформування стегнових і великогомілкових кісток 3-місячних щурів. У 6-місячних щурів істотного зниження біомеханічних властивостей стегнових і великогомілкових кісток не відбувалося.

2. Мінеральна насиченість і зольність епіфізів стегнових кісток 3- та 6-місячних щурів після 28 діб розвантаження задніх кінцівок вірогідно знижувалися відносно аналогічних показників контрольних тварин. Дихання ГГС сприяло збереженню цих показників на рівні, близькому до вихідного.

3. У 3-місячних щурів з розвантаженням задніх кінцівок, які дихали ГГС у переривчастому режимі, біофізичні характеристики стану кісткової тканини залишалися близькими до контрольного рів-

ня. Нормалізуюча дія ГГС на стан кісткової тканини 6-місячних щурів з розвантаженням задніх кінцівок була менш вираженою.

V.A. Berezovskiy, H.G. Chaka, P.V. Lakhin

INFLUENCE OF OXYGEN DEPRIVATION ON SITUATION OSTEODISTROFIA DEVELOPMENT

The subject of the study was influence of gas mixture (GGS) with low P_{O_2} on biomechanical properties of femoral and tibial bones in rats after hind-limb unloading. Experiments were performed in two different age groups (three month and six month) rats. It is shown that biomechanical properties of bone tissue in young rats, inhaling atmospheric air, under the influence of 28 days hind-limb unloading deteriorate essentially in comparison with adult rats. The biomechanical indexes of femoral and tibial bones in three month age rats close to control value after periodical inhaling of GGS. In six month age rats normalizing action of low P_{O_2} not so essential. Thus bone tissue of young rats is more sensitive to different pathogenetic action than in adult rats. Such difference may be connected with retard of remodeling of bone tissue in adult rats.

A.A. Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Science of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Астахова В.С., Березовський В.Я., Панченко Л.М., Хасабова І.А. Клонування стромальних клітин – попередників кісткового мозку людини за умов зниженого парціального тиску кисню // Фізiol. журн. – 2001. – 47, №1. – С.40 – 45.
2. Березовський В.А., Левашов М.И. Введение в ортопедию. – К.: Віпол, 2000. – 73 с.
3. Воложин А.И. Влияние гипоксической гипоксии и гиперкапнии на кальций, неорганический фосфор и общий белок крови крыс при гиподинамическом синдроме // Косм. биология и авиакосм. медицина. – 1971. – 5, №2. – С.17 – 21.
4. Кнетс И.В., Пфафрод Г.О., Саулгозис Ю.Ж. Деформирование и разрушение твердых биологических тканей. – Рига.: Зинатне, 1980. – 318 с.
5. Легин Г.А. Рост и формирование костей конечностей инбредных крыс в условиях хронической гипоксической гипоксии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1989. – 21 с.
6. Оганов В.С. Гипокинезия фактор риска остеопороза // Остеопороз и остеопения. – 1998. – №1. – С.13 – 17.
7. Подрушняк Е.П. Остеопороз – проблема века. – Симферополь: Одиссей, 1997. – 216 с.
8. Ступаков Г.П., Воложин А.И. Костная система и невесомость. – В кн.: Пробл. Косм. Биологии. – М.: Наука, 1989. – Т.63. – С. 185.

9. Чижов А.Я. Теоретические предпосылки и практический опыт применения прерывистой нормобарической гипоксии в лечении, профилактике и реабилитации. – К.: Логос, 1998. – Т.2. – С.52 – 59.
10. Cooper C., Barher DJP, Wichhan C. Physical activity, muscle strength and calcium intake in fracture of the proximal femur in Britain //Br.Med. J. – 1998. – 297, №7. – P.1443 – 1446.
11. Donaldson C., Hulley S., Vogel J. et al. Effects of prolonged bed rest on bone mineral //Metabolism. – 1970. – 19, №6. – P. 1071 – 1084.
12. Morey – Holton E.R., Wronski T.I. Animal models for simulating weightlessness// Physiologist. – 1981. – 24, № 6. – P.45 – 48.
13. Tuncay O.C., Ho B., Barker M.K. Oxygen tension regulation osteoclast function // Amer. J. Orthop. Dentofal. – 1994. – 105, № 5. – P.457 – 463.
14. Valies F.S., Vanderby R.I.R., Martines D.A. Adaptation of young adult rat cortical bone to 14 days of spaceflight // J. Appl. Physiol. – 1992. – 73, № 2 (Suppl). – P. 45 – 95.

*Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,
Київ*