

М.И. Левашов, С.Л. Сафонов, П.В. Лахин

## Влияние гипокинезии и гипоксии на статический электрогенез кости

*Исследовали закономерности распределения квазистатического электрического потенциала (КСЭП) на периостальной поверхности свежесыведенных бедренных костей 64 взрослых крыс-самцов линии Вистар и их изменения под влиянием гипокинезии и дозированной гипоксии. Максимальные величины КСЭП отрицательной полярности были зарегистрированы в эпифизарно-метафизарных отделах, минимальные – в центральных отделах диафиза бедренной кости. Закономерности распределения КСЭП по периостальной поверхности свежесыведенной кости отражали физиологическую неравномерность интенсивности метаболических процессов в разных отделах кости как органа. Репаративная регенерация сопровождалась усилением электронегативности в области репарации и смежных с ней отделах, а также изменением физиологического характера распределения КСЭП на периостальной поверхности поврежденной кости. Гипокинезия приводила к нарушению статического электрогенеза, которое проявлялось уменьшением КСЭП, особенно в анатомотопографических отделах кости с изначально высоким уровнем метаболизма. Дозированная прерывистая гипоксия активировала статический электрогенез кости. Гипобарическая гипоксия приводила к более значительному повышению КСЭП у старых крыс, чем нормобарическая.*

*Ключевые слова:* кость, квазистатический электрический потенциал, гипокинезия, гипоксия.

### ВСТУПЛЕНИЕ

На протяжении длительного времени электрофизиологи занимались исследованием главным образом электрических свойств возбудимых тканей. В отношении же костной ткани существовало предубеждение, что в ее физиологии биоэлектрические процессы не играют существенной роли в силу высокой минерализации и относительной бедности клеточными элементами. Положение существенно изменилось, когда Fukada и Yasuda [16] опубликовали данные своих исследований, которые свидетельствовали о том, что при деформации кости в ней возникает слабый электрический ток, имеющий пьезоэлектрическую природу. Хотя приоритет в открытии электрических явлений в кости по праву принадлежит японским ученым, следует отметить, что еще в 1947 г. про-

фессор А.В. Русаков (Москва) высказывал мысль о том, что костная ткань должна обладать пьезоэлектрическими свойствами, а в 1955 г. в Институте физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины ученица академика Д.С. Воронцова – профессор С.И. Фудель-Осипова с сотрудниками впервые описала «электромоторные» свойства кости.

За прошедшие 50 лет представления о механизмах электрогенеза костной ткани претерпели существенное развитие. В настоящее время под электрогенезом костной ткани понимают способность генерировать электрические потенциалы, что определяется ее активными биоэлектрическими свойствами. Выделяют два вида электрогенеза костной ткани – динамический и статический [1, 8]. Динамический электрогенез лежит в основе формирования деформационных электри-

© М.И. Левашов, С.Л. Сафонов, П.В. Лахин

ческих потенциалов (ДЭП) пьезоэлектрической и электрокинетической природы. Статический электрогенез связан с возникновением в кости медленно изменяющихся во времени квазистатических электрических потенциалов (КСЭП), к которым относят потенциалы покоя, активного роста и регенерации. Динамический и статический электрогенез тесно взаимосвязаны. Полагают, что ДЭП выполняют не только роль пусковых механизмов управления активностью клеток костной ткани, но и генераторов электрической энергии, обеспечивающих поддержание необходимого уровня статического электрогенеза.

В основе современной концепции электрогенеза в биологических тканях лежит мембранно-ионная теория. Как известно, ее основные положения сводятся к тому, что местом электрогенеза является поверхностная мембрана клетки, а возникающая разность потенциалов имеет ионную природу и обусловлена асимметрией распределения катионов и анионов по обе стороны мембраны. Однако костная ткань, в отличие от других тканей организма, содержит относительно мало клеточных элементов. На долю клеток приходится всего лишь около 3% всего объема костной ткани, основную массу которой составляет высокоминерализованный матрикс, состоящий главным образом из гидроксиапатита и поляризованных молекул коллагена, которым отводится ведущая роль в механизмах внеклеточного электрогенеза [9]. Механизмы генерации КСЭП и роли статического электрогенеза в процессах физиологической и репаративной регенерации костной ткани, остаются неясными [2, 11, 12]. Поэтому целью работы было исследование закономерностей распределения КСЭП на поверхности бедренных костей взрослых крыс и изменений статического электрогенеза под влиянием гипокинезии и дыхания гипоксическими газовыми смесями.

## МЕТОДИКА

Исследования выполнены на 64 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 6 и 24 мес. Материалом служили свежеснятые бедренные кости, которые получали от декапитированных под эфирным наркозом животных. Бедренные кости скелетировали и погружали в 0,9%-й раствор хлорида натрия. Измерение КСЭП проводили на электрофизиологической установке (рис. 1), имеющей разрешающую способность – 0,01 мВ, предел допускаемой относительной основной погрешности измерений  $\pm 0,05\%$ , входное сопротивление дифференциального усилителя больше 1000 МОм, коэффициент усиления  $\times 100$ . В исследованиях использовали электроды Ag-AgCl с солевыми мостиками, состоящими из 0,9%-го NaCl в 2%-м агаре. При измерении КСЭП референтный электрод размещали на дистальном эпифизе бедренной кости, а измерительный электрод пере-

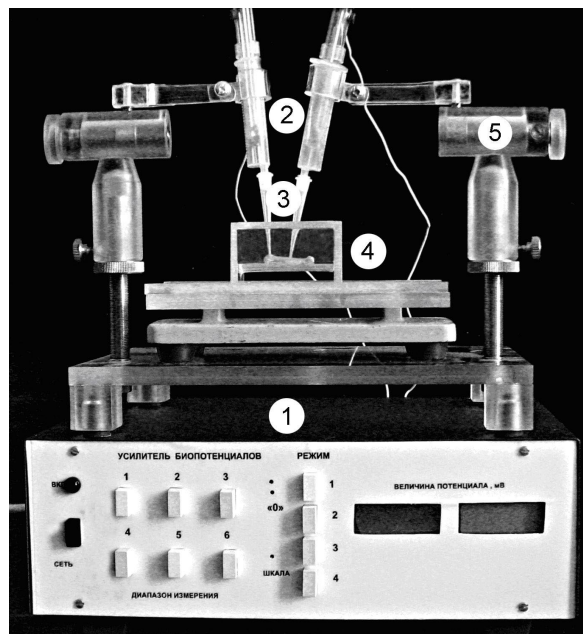


Рис.1. Установка для исследования статического электрогенеза кости: электронный блок (1), электроды Ag-AgCl (2), солевые агаровые мостики (3), камера для размещения объекта исследований (4), система микроманипуляторов (5)

мещали с помощью микроманипуляторов по периостальной поверхности кости, последовательно фиксируя его в следующих анатомотопографических зонах: I – дистальная эпифизарно-метафизарная, II – дистальная метафизарно-диафизарная, III – центр диафиза, IV – проксимальная метафизарно-диафизарная, V – проксимальная эпифизарно-диафизарная. Измерительную камеру поддерживали во влажном состоянии с помощью 0,9%-го раствора хлорида натрия, рН 7,2. Исследования проводили при 20–22°C.

Дозированную гипокинезию создавали путем жесткого 28-суточного ограничения подвижности крыс в специальных клетках-пеналах, обеспечивающих свободный их доступ к пище и воде. Контрольные крысы находились в обычных условиях вивария. Прерывистую нормобарическую гипоксию создавали ежедневным дыханием животных гипоксической газовой смесью (10 % кислорода в азоте) в режиме 10 мин гипооксигенации и 10 мин реоксигенации на протяжении 1 ч. Продолжительность воздействия составляла 28 сут. Гипоксическую газовую смесь с заданным содержанием кислорода получали с помощью мембранной газоразделительной установки “Борей -М”. Все исследования выполнены в соответствии с требованиями биоэтики и принципов Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях.

Полученный цифровой материал обрабатывали методом статистического анализа с использованием критерия t Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование величины и характера распределения КСЭП на периостальной поверхности свежесыводенной ненагруженной бедренной кости 6-месячных крыс-самцов (n = 20) линии Вистар, показало, что наибольший негативный потенциал (-2,67

мВ ± 0,28 мВ) регистрировался в области дистальной эпифизарно – метафизарной зоны, а наименьший (-0,15 мВ ± 0,05 мВ) – в центре диафиза (рис. 2).

Очевидно, что такие существенные различия в величине КСЭП и характерные закономерности его распределения по периостальной поверхности кости отражали физиологическую неравномерность интенсивности метаболических процессов в различных отделах кости [5, 14, 15]. Поскольку в эпифизарно-метафизарных зонах роста наблюдается высокая интенсивность кровообращения и пролиферативных процессов, регистрируемый в данной области электрический потенциал можно отнести к разряду метаболических потенциалов. Как доказательство связи КСЭП с интенсивностью метаболических и регенераторных процессов может рассматриваться сделанное нами наблюдение свежесконсолидированного перелома диафизарной части бедренной кости крысы (таблица).

Из приведенных результатов видно, что в кости со свежесконсолидированным переломом изменялись как абсолютное

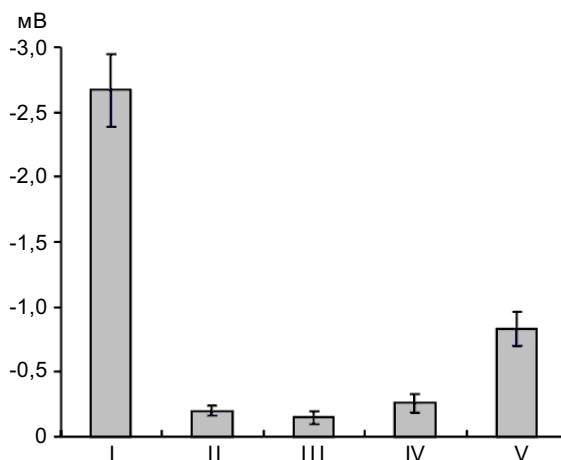


Рис.2. Распределение квазистатического электрического потенциала на периостальной поверхности бедренной кости крыс 6-месячного возраста: I – дистальная эпифизарно-метафизарная зона, II – дистальная метафизарно-диафизарная зона, III – центр диафиза, IV – проксимальная метафизарно-диафизарная зона, V – проксимальная эпифизарно-диафизарная зона

**Квазистатический электрический потенциал (мВ) в разных отделах периостальной поверхности интактной бедренной кости и кости со свежесконсолидированным переломом (отдельное наблюдение)**

Объект исследования	Зона регистрации электрического потенциала				
	дистальная эпифизарно-метафизарная	дистальная метафизарно-диафизарная	центр диафиза	проксимальная метафизарно-диафизарная	проксимальная эпифизарно-диафизарная
Интактная кость	-2,85	-0,27	-0,23	-0,31	-1,00
Поврежденная кость	-3,35	-0,71	-10,33	-0,81	-4,35

значение, так и характер распределения КСЭП по периостальной поверхности. В области образования костной мозоли – центре диафиза, фиксировался максимальный отрицательный электрический потенциал (-10,33 мВ). Существенно увеличивались также значения потенциала в областях, прилежащих к центру перелома. В интактной бедренной кости сохранялся физиологический характер распределения КСЭП с максимумом в эпифизарно-метафизарной зоне роста (-2,85 мВ) и минимумом – в центре диафиза (-0,23 мВ).

В пользу связи значения КСЭП с уровнем метаболической активности в разных отделах бедренной кости свидетельствуют также данные ранее выполненных нами полярографических исследований, в которых было установлено, что потребление кислорода диафизарной частью бедренной кости взрослых крыс не превышает  $(0,09 \pm 0,012) \cdot 10^{-3}$  мл  $O_2 \cdot \text{мин}^{-1}$  тогда как в дистальном и проксимальном эпифизе потребление кислорода на 50–80 % выше и достигает  $(0,15 \pm 0,013) \cdot 10^{-3}$  и  $(0,12 \pm 0,010) \cdot 10^{-3}$  мин $^{-1}$  соответственно ( $P < 0,05$ ) [6].

Известно, что уменьшение функциональной нагрузки на конечности приводит к уменьшению кровотока и интенсивности метаболических процессов в мышечной и костной ткани [3, 7]. Поэтому вполне закономерно встает вопрос о характере влияния этих изменений на процессы статического электрогенеза кости. Для выяснения данного вопроса нами были проведены сравнительные исследования

значений и характера распределения КСЭП на периостальной поверхности бедренной кости крыс, находившихся в стандартных условиях вивария без ограничения подвижности ( $n=10$ ) и крыс, пребывавших в течение 28 сут в условиях жесткой гипокинезии ( $n=20$ ).

Установлено, что после 28-суточной гипокинезии средние значения КСЭП во всех исследованных зонах периостальной поверхности бедренной кости опытных крыс были на 20–32 % меньше, чем у контрольных животных. При этом общая закономерность распределения КСЭП не претерпевала существенных изменений (рис.3).

Полученные результаты позволяют говорить о том, что в условиях жесткого

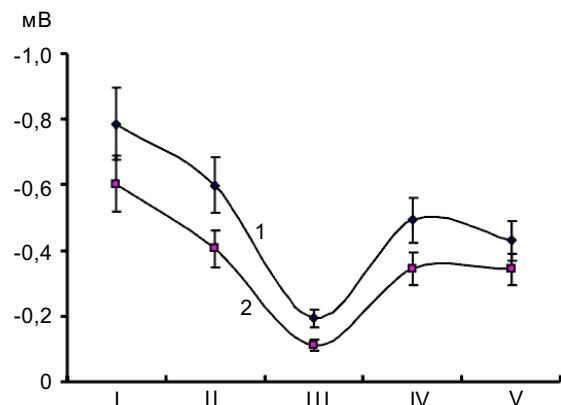


Рис. 3. Распределение квазистатического электрического потенциала на периостальной поверхности бедренной кости крысы в контроле (1) и после 28-суточной гипокинезии (2): I – дистальная эпифизарно-метафизарная зона, II – дистальная метафизарно-диафизарная зона, III – центр диафиза, IV – проксимальная метафизарно-диафизарная зона, V – проксимальная эпифизарно-диафизарная зона

ограничения подвижности происходит снижение уровня статического электрогенеза в ненагруженной кости, что может быть одним из патогенетических механизмов развития гипокинетической остеопении.

В настоящее время среди немедикаментозных методов профилактики и коррекции нарушений костной системы, которые развиваются в условиях гипокинезии, микрогравитации и при старении организма значительное внимание уделяют методу прерывистой нормобарической гипоксии (ПНГ) [2]. Показано, что ПНГ оказывает существенное влияние на пассивные электрические свойства костной ткани – ее импеданс, активное и реактивное сопротивление, диэлектрическую проницаемость [6,14,15]. Однако вопрос о влиянии ПНГ на статический электрогенез кости остается неизученным. В этой связи нами были проведены исследования влияния ПНГ на генерацию КСЭП нормально нагруженной бедренной кости 24 крыс-самцов линии Вистар.

Установлено, что дыхание нормобарическими гипоксическими газовыми смесями в интермитирующем режиме приводило к активации статического электрогенеза нормально нагруженной бедренной кости крыс (рис.4). Об этом свидетельствовал тот факт, что после окончания 28-суточного цикла воздействий ПНГ значение КСЭП достоверно увеличивалось на 45,9–55,5 % в 3 из 6 исследуемых зон периостальной поверхности кости при сохранении его типичного пространственного распределения.

Для получения более четкой картины установленных закономерностей, условия эксперимента были изменены. В качестве объекта исследований использовали старых крыс, а прерывистую нормобарическую гипоксию заменили на прерывистую гипобарическую гипоксию. Опытная группа животных (n=12) в возрасте 24 мес на протяжении 14 сут по 1 ч ежедневно подвергалась воздействию прерывистой гипобарической гипоксией в режиме “подъем–спуск” на условную высоту 5000 м (4 цикла за 1

ч). Животные контрольной группы (n=12) находились в условиях вивария на стандартном режиме содержания.

Результаты проведенных исследований подтвердили корректность сделанных выше предположений. Установлено, что значения КСЭП у старых крыс во всех исследуемых анатомо-топографических зонах бедренной кости были на 24–32 % меньше, чем у молодых, хотя общая закономерность их пространственного распределения сохранялась (рис. 5). После курса тренировок прерывистой гипобарической гипоксией значения КСЭП во всех исследуемых областях бедренной кости у старых животных увеличивались на 48–53 % относительно контроля.

Наши результаты согласуются с существующими представлениями о важной роли метаболических процессов в обеспечении статического электрогенеза в костной ткани. Они также позволяют дать утвердительный ответ на вопрос о возможности направленного воздействия на эти процессы дозированной интермитирующей гипоксией. Однако наряду с метаболическими,

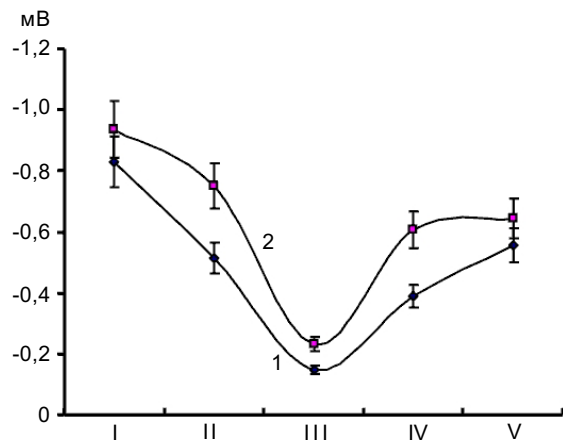


Рис. 4. Распределение квазистатического электрического потенциала на периостальной поверхности бедренной кости крысы в контроле (1) и после 28-суточного воздействия прерывистой нормобарической гипоксией (2): I – дистальная эпифизарно-метафизарная зона, II – дистальная метафизарно-диафизарная зона, III – центр диафиза, IV – проксимальная метафизарно-диафизарная зона, V – проксимальная эпифизарно-диафизарная зона

существуют и иные механизмы поддержания статического электрогенеза в кости. Установлено, что в трубчатых костях человека и животных, даже без функциональной нагрузки, есть определенное внутреннее механическое напряжение, при этом слои костной ткани, прилежащие к эндостальной поверхности кости, подвергаются сжимающим усилиям, а к периостальной – растягивающим [1]. Вследствие этого эндостальная поверхность кости всегда заряжена негативно относительно периостальной. Таким образом, кость как орган находится не только в состоянии перманентного внутреннего напряжения, но и постоянной электрической поляризации, характерная стереометрия которой определяется особенностями распределения ее собственных механических напряжений. Известно также, что костная ткань обладает ферроэлектрическими свойствами (сегнетоэлектрик), т.е. способностью к спонтанной поляризации, величина и направление которой может сравнительно легко изменяться под влиянием внешних факторов. Поскольку костная ткань не

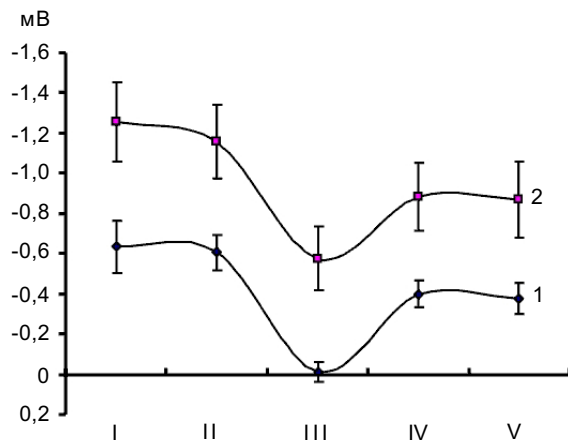


Рис. 5. Распределение квазистатического электрического потенциала на периостальной поверхности бедренной кости крысы в контроле (1) и после 14 сут воздействия прерывистой гипобарической гипоксией (2): I – дистальная эпифизарно-метафизарная зона, II – дистальная метафизарно-диафизарная зона, III – центр диафиза, IV – проксимальная метафизарно-диафизарная зона, V – проксимальная эпифизарно-диафизарная зона

является однородно поляризованной, а состоит из доменов – областей с различными направлениями спонтанной поляризации, ее конечная конфигурация также в значительной мере определяется характером распределения в кости внутренних напряжений.

Способность костной ткани трансформировать механические напряжения в электрический сигнал первоначально связывали с пьезоэлектрическими свойствами кристаллических структур минерального матрикса кости. Однако позже было установлено, что пьезоэлектрическими свойствами обладают коллаген и другие компоненты органического матрикса. Механические сдвиговые напряжения, возникающие в кости при деформации, приводят к смещению водородных, а также внутри- и межмолекулярных поперечных связей коллагена. Вследствие этого происходит направленное смещение электрического заряда, т.е. происходит поляризация коллагена. Суммарный эффект такого смещения в цепи упорядоченно расположенных молекул проявляется как разность потенциалов. Показано также, что макромолекулы коллагена, обладая электретыми свойствами, могут сохранять поляризованное состояние на протяжении длительного времени, создавая макроскопические области с неравновесным квазистатическим электрическим зарядом [10,13].

Таким образом, костная ткань обладает рядом сложных и до конца еще не исследованных механизмов электрогенеза, которые играют важную роль в процессах ее физиологической и репаративной регенерации.

## ВЫВОДЫ

1. Для статического электрогенеза бедренной кости крысы характерны максимальные КСЭП в эпифизарно-метафизарных отделах и минимальные – в централь-

ных отделах диафіза. Закономерности распределения КСЭП по периостальной поверхности свежесыводенной кости отражают физиологическую неравномерность интенсивности метаболіческих процессов в различных отделах кости как органа.

2. Процесс репаративной регенерации кости, подвергшейся механическому повреждению, сопровождается усилением электронегативности в области репарации и смежных с ней отделах, что приводит к изменению физиологического характера распределения КСЭП на периостальной поверхности поврежденной кости.

3. Гипокинезия приводит к нарушению статического электрогенеза в ненагруженной бедренной кости, что сопровождается уменьшением КСЭП особенно в анатомо-топографических отделах, обладающих исходно высоким уровнем метаболизма.

4. Дозированная прерывистая гипоксия активирует статический электрогенез кости. Гипобарические тренировки приводят к более значительному повышению КСЭП у старых крыс, чем нормобарические. После курса тренировок гипобарической гипоксией КСЭП бедренной кости старых крыс возрастал на 48–53 % во всех исследованных зонах ее периостальной поверхности.

**М.І. Левашов, С.Л. Сафонов, П.В. Ляхін**

### **ВПЛИВ ГІПОКІНЕЗІЇ ТА ГІПОКСІЇ НА СТАТИЧНИЙ ЕЛЕКТРОГЕНЕЗ КІСТКИ**

Досліджували закономірності розподілу квазістатичного електричного потенціала (КСЕП) на периостальній поверхні свіжовиділених стегнових кісток 64 дорослих щурів-самців лінії Вістар, а також їхні зміни під впливом гіпокінезії та дозованої гіпоксії. Максимальні значення КСЕП негативної полярності було зареєстровано в епіфізарно-метафізарних відділах, мінімальні – у центральних відділах діафіза кістки. Закономерності розподілу КСЕП по периостальній поверхні свіжовиділеної кістки відображали фізіологічну нерівномірність інтенсивності метаболічних процесів у різних відділах кістки як органа. Репаративна регенерація супроводжувалася посиленням електронегативності у

ділянці репарації та суміжних з нею відділах і зміною фізіологічного характеру розподілу КСЕП на периостальній поверхні ушкодженої кістки. Гіпокінезія призводила до порушень статичного електрогенезу, які супроводжувалися зменшенням значення КСЕП, особливо в анатомо-топографічних відділах кістки, що мали початковий високий рівень метаболізму. Дозована переривчаста гіпоксія активувала статичний електрогенез кістки. Гіпобарична гіпоксія призводила до більш значного підвищення КСЕП у старих щурів, ніж нормобарична. Ключові слова: кістка, квазістатичний електричний потенціал, гіпокінезія, гіпоксія.

**M.I. Levashov, S.L. Saphonov, P.V. Lakhin**

### **EFFECTS OF HYPOKINESIA AND HYPOXIA ON BONE STATIC ELECTROGENESIS**

It was studied the conformities to law of quasistatic electric potential (QSEP) distribution on the periosteal surface of 64 adult Vistar rats-males fresh exited femur and their changes after dosed hypokinesia and hypoxia influences. The maximal negative sizes of QSEP were incorporated in epiphyseal-metaphyseal departments and minimal - in the central part of bone diaphysis. Conformities to law of QSEP distribution on the periosteal surface fresh exited bone represented the physiology unevenness of metabolic processes intensity in the different bone departments. Reparative regeneration was accompanied with strengthening of electro-negativity of reparations and adjacent parts and changing of physiology character of QSEP distribution on the periosteal surface of the damaged bone. Hypokinesia disturbed of bone static electrogenesis. It was accompanied with diminishing of QSEP size especially in bone parts which had high level of metabolism. Dosed an intermittent normobarical and hypobarical hypoxia activated of bone static electrogenesis. More considerably increasing of QSEP in old rats was obtained after the intermittent hypobarical hypoxia influences.

Key words: bone, quasistatic electric potential, hypokinesia, hypoxia.

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Акимова Е.Л., Логинова Н.К. Электрогенез в челюстных костях и зубах и возможности его использования в практической стоматологии// Стоматология. – 1994. – №1. – С. 62–67.
2. Березовський В.Я., Літовка І.Г., Чака О.Г., Ляхін П.В. Фізіологічна стимуляція ремоделювання кісткової тканини//Фізіол. журн. – 2002. – 48, №2. – С.49.
3. Бруско А.Т., Гайко Г.В. Функциональная перестройка костей и ее клиническое значение. – Луганск: ЛГМУ, 2005. – 212 с.

4. Гончарова Л.Д., Тяжелов А.А., Лобанов Г.В. Концепция внутренних напряжений опорных структур и ее место в вопросах остеосинтеза // Травма. – 2008. – 9, №2. – С.227–232.
5. Карлсон Б.М. Регенерация. – М.: Наука, 1986. – 296 с.
6. Левашов О.М., Березовский В.А., Левашов М.И., Сафонов С.Л. Влияние прерывистой нормобарической гипоксии на кислородный метаболизм и биофизические свойства кости при гипокинезии // Укр. мед. альманах. – 2007. – 10, №5. – С.105–109.
7. Оганов В.С. Гипокинезия – фактор риска остеопороза//Остеопороз и остеопения. – 1998, №1. – С.13–17.
8. Ткаченко С.С. Остеосинтез. –Л.: Медицина, 1987. – 272 с.
9. Хан Т. Метаболические болезни костей /Эндокринология/ Ред. Н. Лавин, Пер. с англ. В. И. Кандрора при участии Э. А. Антуха, Т. Г. Горлиной под ред. А. В. Тимофеева. – М.: Практика, 1999. – Гл. 25. – С.455–478.
10. Burr D.B. The contribution of the organic matrix to bone's material properties// Bone. – 2002. – 31, №1. – P.8–11.
11. El-Lakkani A. Dielectric response of some biological tissues // Bioelectromagnetics. – 2001. – 22, №4. – P.272–279.
12. Gabriel C. Dielectric properties of biological tissue: variation with age // Ibid. –2005, Suppl. 7. – С.12–18.
13. Hastings G.W., Mahmud F.A. Electrical effects in bone// J. Biomech. Eng. – 1998. – 10, №6. – P.515–521.
14. Kotha S.P., Guselsu N. Effect of bone mineral content on the tensile properties of cortical bone: experiments and theory // Ibid. – 2003. – 125, №6. – P.785–793.
15. McDonald F. Electrical effects at the bone surface // Eur. J. Ortodontics. – 1993. – 15. – P.175–183.
16. Fukada E., Yasuda I. On the piezoelectric effect of bone // J. Physiol. Society of Japan. – 1957. – №12. – P.1158–1162.

*Ин-т физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев*  
*E-mail: Levashov@biph.kiev.ua*