

**В.Я. Березовський, П.В. Лахін,
І.Г. Літовка, С.Л. Сафонов, О.Г. Чака, В.О. Безчасна**

Моделювання експериментальної остеопенії та розробка технології її профілактики у щурів

Разработано приспособление для разгрузки задних конечностей у крыс и технология предупреждения развития остеопении бездействия.

ВСТУП

Життя сучасної людини проходить в умовах істотного зниження фізичного навантаження, обмеження рухової активності. Це негативно впливає на структурно-функціональний стан життєво важливих органів і систем, особливо на кісткову тканину [7,9,13, 15]. Дефіцит фізичної активності призводить до розвитку остеопорозу, який характеризується типовими змінами кісткового метаболізму. Відбувається зменшення кісткової маси, значне виведення з організму кальцію, структурна перебудова органічного матриксу, погіршення біомеханічних властивостей кістки, що збільшує ризик переломів. Розвиток патології значно варіює в різних ділянках скелета і залежить від ступеня вагового навантаження [6, 17, 19].

Однією з критичних зон (з точки зору можливого травмування як у людей, так і у тварин) є проксимальний відділ стегнової кістки [6, 12, 24]. Експериментальне моделювання патологічних процесів у кістковій тканині відіграє важливу роль у вивченні механізмів їх розвитку та створенні нових терапевтичних заходів. В експерименті на тваринах остеопороз відтворюють різними способами: оваріоектомією [14], введенням високих концентрацій гормонів (тиреоїдину, паратиреоїдного гормону, глю-

кортикоїдів, соматотропного гормону, глюкагону) [18], тривалою іммобілізацією [21], гіпокінезією [10, 15], радіоактивним опроміненням високими дозами [5], денервацією кінцівки, ампутацією дистальної її частини, екзартикуляцією, розвантаженням задніх кінцівок [22, 23, 27]. Усі ці моделі дозволяють виявити закономірності розвитку остеодистрофічних процесів та їх особливості залежно від способу моделювання.

Особливий інтерес у механізмах патогенезу остеопорозу являють собою ранні стадії процесу, коли відбувається уповільнення приросту маси тіла щура, а зменшення кісткової маси ще не виявляється.

Модель розвантаження задніх кінцівок, яку в різних варіантах запропонували декілька авторів [22, 23, 25], найбільшою мірою відтворює стан гіпокінезії та гіподинамії з властивими йому переміщеннями рідин у краніальну частину тіла і відсутністю вагового навантаження задніх кінцівок [23]. Притаманне сучасному способу життя “цивілізованої” людини обмеження і зменшення м’язових зусиль для утримання пози, пасивне переміщення у просторі, відсутність фізичної роботи та гіпокінезія [8] зумовлюють значне поширення остеопорозу. Аналогічні наслідки властиві довготривалому перебуванню у ліжку [26] або умовам мікрогравітації [7, 12, 15].

Створена нами модель безопорного положення задніх кінцівок достатньо повно імітує вагове розвантаження кісток тазового поясу. Її можна використовувати в коротко- і довготривалих експериментах для дослідження розвитку різних стадій остеопенії бездіяльності. Раніше використовували більш складні та травматичні для тварин моделі розвантаження стегнових кісток. Після набуття досвіду роботи з ними ми дійшли висновку про доцільність створення пристрою для розвантаження задніх кінцівок шурів. Такий пристрій необхідний для розробки технології попередження розвитку остеопенії бездіяльності, типової як для земного тяжіння, так і для тривалого перебування за умов мікрогравітації.

МЕТОДИКА

У наших експериментах було досліджено молодих (3 міс) і дорослих (6 міс) шурів-самців з безопорним положенням задніх кінцівок за умов періодичної подачі штучної газової суміші (ШГС) з різним парціальним тиском кисню [2, 3, 11]. Експеримент тривав 28 діб. Газову суміш зі зниженим P_{O_2} (100–110 мм рт.ст.) подавали в переривчастому режимі щодобово по 8 год на добу.

Досліджували біохімічні та біофізичні показники – маркери ремоделювання кісткової тканини. На основі даних власних експериментів [2–4, 11] і спостережень інших дослідників [1, 16, 20] нами було обґрунтовано і впроваджено технологію біофізичної стимуляції метаболізму кісткової тканини з метою профілактики остеопенії, яка розвивається в умовах гіпокінезії і гіподинамії.

Установка в цілому складається зі сферичного контейнера, який має зйомну кришку з прозорого плексигласу ($d = 600$ мм). Під кришкою розташовано круглу платформу поділену на 6 секторів, в яких знаходяться шури.

Тварини за допомогою спеціального пристрою – системи рухомої фіксації (рис. 1), підвішені під кутом 45° за тіло II хвостового хребця в центральній частині кожного сектора. При цьому задні кінцівки не торкаються ні платформи, ні бокових стінок контейнера. Такий спосіб рухомої фіксації хвоста забезпечує його мінімальну травматизацію без компресії кровоносних і лімфатичних судин, без набряку та некрозу тканин. Ця система на відміну від інших описаних методичних підходів дає змогу більш тривало проводити експеримент.

Центральна частина платформи має вигнуте поглиблення з отворами, через які продукти життєдіяльності тварин потрапляють у піддон (рис. 2). У кожному секторі є індивідуальна годівничка і поїлка. Контей-

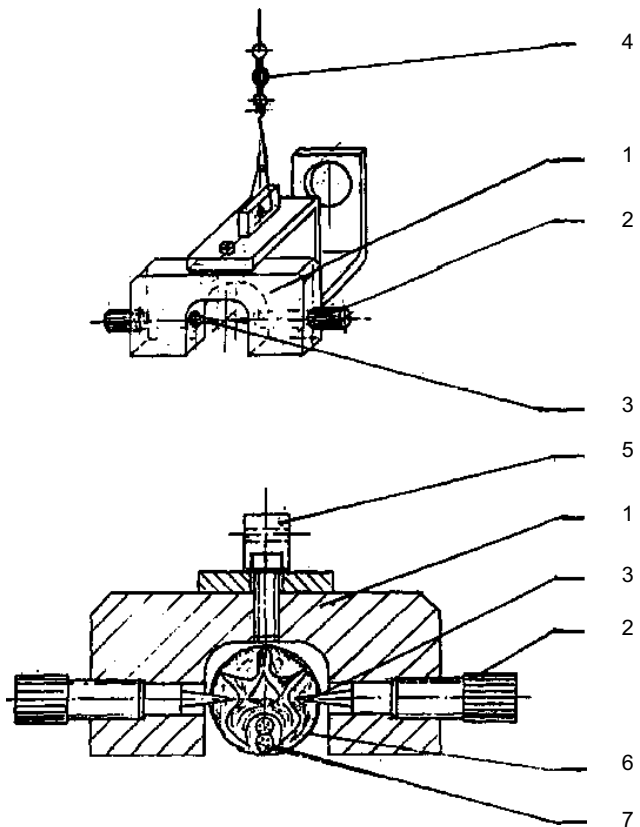


Рис. 1. Система рухомої фіксації другого хвостового хребця шура: 1 – корпус скоби фіксації, 2 – конічні фіксатори, 3 – погрузне вістря фіксатора, 4 – шарнір підвіски, 5 – кронштейн для скоби підвіски, 6 – поверхня шкіри хвоста, 7 – кровоносні судини

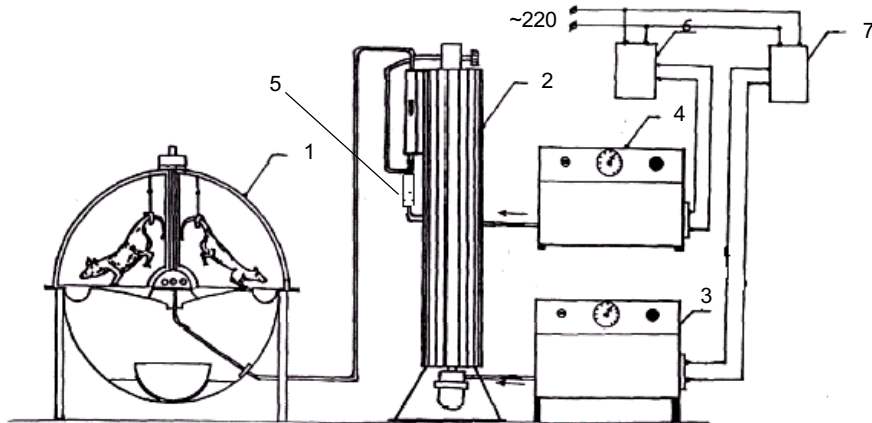


Рис. 2. Блок-схема пристрою для моделювання остеопенії бездіяльності та її корекції за допомогою штучних газових сумішей: 1 – сферичний контейнер для групи тварин з безопорним положенням задніх кінцівок, 2 – газорозподільний елемент, 3 – компресор подачі газової суміші в контейнер, 4 – компресор подачі атмосферного повітря в контейнер, 5 – клапан переключення струмів повітря та газової суміші, 6 – програмоване реле часу подачі атмосферного повітря, 7 – програмоване реле часу подачі газової суміші

нер має прозорі стінки для спостереження за станом щурів. Перевагою такого варіанту моделювання розвантаження задніх кінцівок є забезпечення однакових умов для всіх дослідних тварин, оскільки всі сектори мають однаковий об'єм. Така конструкція контейнера забезпечує умови для створення керованого газового середовища в об'ємі установки.

Для попередження розвитку остеопенії бездіяльності, на підставі попереднього досвіду роботи, ми обрали кероване газове середовище зі зниженим парціальним тиском кисню.

ШГС, що відтворює стимулювальну дію гірського клімату помірних висот, одержували за допомогою мембранного газорозподільного елемента з поліметилпентену, який виконував функцію молекулярного сита. Генератор ШГС складається з компресора, фільтра-вологовідділювача, власне газорозподільного елемента, вихідного фільтра, регулювального дроселя та ротаметра. Різниця в концентрації кисню при подачі ШГС до кожного сектора не перевищувала 1 %. Об'ємний вміст кисню у ній контролювали магнітним газоаналізатором МИК-М з діапазоном вимірювання від 0 до 21 %.

Для забезпечення періодичної подачі ШГС у автоматичному режимі було створено програмований блок керування, за допомогою якого можна задавати загальну тривалість і час включення компресора мембранного газорозподілення з періодичним вмиканням і вимиканням подачі ШГС через задані інтервали часу.

Вважаємо, що основними фізіологічними механізмами нормалізації ремоделювання кісткової тканини і профілактики остеопенії бездіяльності при використанні ШГС зі зниженим P_{O_2} є: активізація клітин остеобластної лінії, капіляризація тканин, стимуляція кістково-мозкового кровотоку, який тісно пов'язаний з процесами мінералізації кістки.

V.A.Berezovskii, P.V.Lakhin, I.G.Litovka, S.L.Safonov, H.G.Chaka, V.A.Bezchasnay

THE SIMULATING OF EXPERIMENTAL OSTEOPENIA MODELING IN THE RATS AND ITS PROPHYLAXIS TECHNOLOGY

An appliance for hind limb unloading in rats and the technology for preventing of inactivity osteopenia have been developed.

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 // Фізіол. журн. – 2001. – 47, №1 (частина 2). – С. 40–44.
2. Березовський В.А., Дейнека В.Г. Физиологические механизмы саногенных эффектов горного климата. – К.: Наук. думка, 1988. – 222 с.
3. Березовський В.Я., Літовка І.Г., Чака О.Г. Вплив дозованої гіпоксії на розвиток ситуаційної остеопенії // Фізіол. журн. – 2000. – 46, №1. – С.10–16.
4. Березовский В.А., Литовка И.Г., Чака Е.Г., Магомедов С., Мехед Н.В. Влияние дозированной гипоксии на метаболизм костной ткани в условиях осевой разгрузки задних конечностей // Косм. наука і технологія. – 2000. – 6, № 2/3. – С. 77–84.
5. Воложин А.И., Ступаков Г.П., Давыдова Н.Г. Изменение механических свойств бедренной кости и челюстей у собак при остеопорозе, вызванном однократным острым тотальным облучением // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1990. – № 4. – С.44–46.
6. Григорьев А.И., Ларина И.М. Принципы организации обмена кальция // Успехи физиол. наук. – 1992. – 23, №3. – С.24–52.
7. Григорьев А.И., Воложин А.И., Ступаков Г.П. Минеральный обмен у человека в условиях измененной гравитации // Пробл. косм. биологии. – М.: Наука, 1994. – 74. – 214 с.
8. Гришук А.И., Данилова И. Г. Клетка для моделирования длительной гипокинезии у крыс // Косм. биология и авиакосм. медицина. – 1986. – 20, №3. – С. 75–78.
9. Дідух Н.В., Бенгус Л.М. Гістоцитопічні аспекти аліментарного остеопорозу // Вісник морфології. – 2000. – 83, № 1. – С.83–85.
10. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. – М.: Медицина, 1980. – 318 с.
11. Литовка И.Г. Дозированная гипоксия как фактор коррекции остеопении бездействия // Косм. наука і технологія. – 2002. – 8, №4. – С. 81–85.
12. Оганов В.С., Григорьев А.И., Воронин Л.И., Рахманов Ф.С. Минеральная плотность костной ткани у космонавтов после полетов длительностью 4,5–6 месяцев на орбитальной станции “Мир” // Авиакосм. и экол. медицина. – 1992. – 26, №5–6. – С.20–24.
13. Оганов В.С. Гипокинезия – фактор риска остеопороза // Остеопороз и остеопатии. – 1998. – №1. – С.13–17.
14. Поворознюк В.В., Григор“єва Н.В. Менопауза та остеопороз. – К., 2002. – 356 с.
15. Прохончуков А.А., Жижина Н.А., Тигранян Р.А. Гомеостаз костной ткани в норме и при экспериментальном воздействии // Пробл. косм. биологии. – М.: Наука. – 1984. – 49. – 200 с.
16. Стрелков Р.Б., Чижов А.Я. Прерывистая нормobarическая гипоксия в профилактике, лечении и реабилитации. – Екатеринбург: Уральский рабочий, 2001. – 400 с.
17. Ступаков Г.П., Воложин А.И. Костная система и невесомость // Пробл. косм. биологии. – М.: Наука. – 1989. – 63. – 185 с.
18. Трифтаниди Л.А. Влияние гидрокортизона на костную ткань крыс // Закономерности морфогенеза опорных структур позвоночника и конечностей на различных этапах онтогенеза. – Ярославль, 1986. – С.101–108.
19. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз: Пер. с нем. – М.: Медицина, 1995. – 304 с.
20. 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.
21. Chen M., Jee S., Ke H. Adaptation of cancellous bone to aging and immobilization in graying rats // Anat. Res. – 1992. – № 3. – P.317–334.
22. Jin Ma, Xin-Ling Ren, Purdy R. E. Effects of hindlimb unweighting on arterial contractile responses in mice // J. Gravitat. Physiol. – 2003. – 10, №1. – P. 79–80.
23. Morey-Holton E.R., Wronski T.I. Animal models for simulating weightlessness // Physiologist. – 1981. – 24, №6. – P.45–48.
24. Morey-Holton E.R., Arnaud S.B. Skeletal responses to spaceflight // Advances in space biology and medicine. – N.Y.: J.A I press, 1991. – 1. – P.37–39.
25. Morey-Holton E.R., Globus R.K. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects // J. Appl. Physiol. – 2002. – 92. – P. 1367–1377.
26. Savilov A.A., Lobachic V. T., Babin A.M. Cardiovascular function of man exposed to LBNP tests // Physiologist. – 1990. – 33, №1 (Suppl.). – P. 128–132.
27. Wronski T.I., Morey-Holton E.R. Skeletal response to stimulated weightlessness: a comparison of suspension techniques // Aviation Space and Environmental medicine. – 1987. – 58, №1. – P.63–68.

Матеріал надійшов до редакції 26.07.2004

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