

# ОКСИГЕНОБАРОТЕРАПИЯ И КОСТНОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ ОСТЕОПОРОЗЕ

Гюльназарова С.В., Кучиев А.Ю., Трифонова Е.Б., Кудрявцева И.П.

*ФГУ «УНИИТО им. В.Д. Чаклина» Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург*

**Резюме.** В статье изложены результаты исследования динамики ремоделирования костной ткани лабораторных животных, у которых моделировали иммобилизационный остеопороз, из них часть была подвергнута оксигенобаротерапии. Проведены морфологические исследования костных препаратов, а также оценка маркеров костного ремоделирования, биоэнергетических процессов и минерального обмена в костных гомогенатах. Установлено, что при остеопорозе оксигенобаротерапия тормозит костную резорбцию при одновременной активизации формообразовательных и биоэнергетических процессов.

**Ключевые слова:** костное ремоделирование, иммобилизационный остеопороз, оксигенобаротерапия.

В настоящее время большое внимание уделяется профилактике и лечению системного остеопороза в связи с большой его распространенностью и высокой частотой встречаемости маркерных переломов, осложняющих его течение. В то же время иммобилизационный остеопороз (ИОП), развивающийся после переломов вследствие значительного дефицита механической нагрузки, остается малоизученным. Известно, что на фоне ИОП резко увеличиваются сроки сращения переломов костей, поэтому в последнее время уделяется внимание повышению эффективности лечения таких переломов путем медикаментозной коррекции [3, 8, 14] или использования некоторых физических факторов [6, 9, 12].

В научной литературе известны работы о благоприятном воздействии гипербарической оксигенации (ГБО) на репаративные процессы при переломах [1, 2, 10, 15, 18], нарушениях репаративной регенерации [17, 19], дегенеративно-дистрофических заболеваниях скелета [16]. Однако до сих пор не разработаны научно обоснованные критерии применения режимов ГБО, поэтому их выбор при лечении различной патологии остается эмпиричным. Поскольку в литературе отсутствовали какие-либо сведения о влиянии ГБО на костную ткань при ИОП, это побудило авторов к проведению данного исследования.

Цель работы – изучить влияние гипербарической оксигенации на ремоделирование и обменные процессы в костной ткани при ИОП.

**Материалы и методы исследования.** В работе использованы 240 лабораторных самцов крыс Вистар в возрасте 3–4 месяцев, весом 120–140 г. У 200 из них формировали ИОП путем ампутации на уровне проксимального метафиза большеберцовой кости. После операции крысы не нагружали ампутированную лапу. Проведено три серии опытов. В первой (контрольной) серии (100 крыс) изучена модель динамики течения ИОП в неопорной и нагружаемой задних конечностях. Сроки наблюдения в этой серии составили: 40, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 дней после операции. Через 100–105 дней после ампутации у крыс формировался ИОП, подтвержденный морфологически и рентгенологически.

Эксперименты по изучению влияния ГБО на ИОП были проведены на 100 крысах после формирования у них остеопороза. В опытах была использована барокамера «ОКА-МТ», в которой крысы ежедневно подвергались оксигенобаротерапии в течение 30 минут. 50 крыс с ИОП (2 серия) получили 10 сеансов ГБО при давлении 2,0 АТА. Другие 50 крыс с ИОП (3 серия) получили аналогичный курс ГБО-терапии, но при меньшем давлении – 1,5 АТА. Сроки наблюдения во 2 и 3 сериях опытов

были одинаковыми: 10, 30, 60, 90, 120 дней после курса ГБО.

Фоновая группа (40 интактных крыс) наблюдалась соответственно срокам контрольной группы. Все животные содержались в аналогичных условиях вивария при  $t$  воздуха 20-22 градуса в световом режиме «день-ночь» на стандартном рационе со свободным доступом к воде. Оперативные вмешательства и эвтаназию осуществляли согласно Европейской Конвенции защиты животных, принятой в 1986 г. в Страсбурге.

Объектом гистологического исследования (световая микроскопия, морфометрия) являлись дистальные и проксимальные метаэпифизы, а также фрагменты диафиза бедренной кости оперированной и контралатеральной конечностей. Экспериментальный материал после фиксации в 10% растворе формалина и декальцинации в 7% растворе азотной кислоты вырезали по определенной схеме (поперечные и продольные срезы). Костные блоки обезживали в спиртах восходящей концентрации, заливали в парафин и целлоидин. Гистологические препараты окрашивали гематоксилин-эозином по Ван-Гизону и Массону. Препараты микроскопировали, отобранные случайным образом поля зрения оцифровывали и сохраняли, используя АПК «ДиаМорф» (Москва). Для каждого препарата исследовали от 4 до 16 полей.

Для биохимического исследования бедренные кости, очищенные от мягких тканей, замораживали в жидком азоте, растирали в фарфоровой ступе и измельчали при  $+4^{\circ}\text{C}$  в сахарозной и солевой средах, центрифугировали при 1000g и 14000g в течение 10 и 15 минут в рефрижераторной центрифуге «Sorvall Biofuge Stratos». В супернатанте определяли маркеры биоэнергетического обмена, костного ремоделирования на анализаторе «Specific basic» (KONE) унифицированными методами с использованием фирменных тест-систем. Содержание кальция и фосфора определяли методом влажного озоления [5].

Статистическая обработка экспериментального материала проведена с использованием программы Статистика 6.1. Результаты представлены в виде  $M$ -среднее арифметическое и  $m$ -стандартное отклоне-

ние. Использовали дисперсионный параметрический и непараметрический анализы.

Результаты и обсуждение. Сопоставление морфологических особенностей структуры костной ткани при экспериментальном ИОП после воздействия на нее оксигенобаротерапии показало, что при разных режимах ГБО (2АТА и 1,5 АТА) в аналогичные сроки наблюдения выявляются сходные процессы, но отличающиеся по их выраженности.

Через 30 суток после завершения сеансов гипербарической оксигенации при обоих режимах в диафизе оперированной конечности сохранялось равномерное расширение гаверсовых каналов кортикальной пластинки. Межтрабекулярные пространства оставались расширенными, но после ГБО в режиме 1,5 АТА в них определялись полнокровие сосудов и гиперплазия миелидного костного мозга.

Через 60 суток после окончания курса гипербарической оксигенации при обоих режимах в кортикальном слое диафиза оперированной конечности сохранялась его rareфикация. После ГБО в режиме 1,5 АТА межтрабекулярные пространства были заполнены миелидным костным мозгом, в то время как после ГБО в режиме 2,0 АТА эти пространства были заполнены в основном жировым костным мозгом.

Через 90-120 суток после завершения курса ГБО при обоих режимах как в оперированной, так и в контралатеральной конечностях сохранялись явления разрежения кортикальной пластинки, но при использовании давления 1,5 АТА rareфикация была менее выраженной. На эндостальной поверхности диафиза, как и метафиза, бедренных костей обеих групп животных отмечались участки компактизации, наложение нового костного вещества, миелидный костный мозг располагался в неравномерно расширенных межтрабекулярных пространствах. После ГБО при 1,5 АТА по сравнению с режимом 2,0 АТА было отмечено достоверное увеличение количества участков компактизации костной ткани, т.е. увеличение объемной плотности костной ткани ( $p < 0,0001$ ).

Данные гистологического исследования были подтверждены результатами морфо-

метрии. Так, толщина кортикальной пластинки во время эксперимента с ГБО в режиме 2,0 АТА практически не менялась, но была достоверно больше, чем в контрольной группе (ИОП без ГБО). У животных, получивших оксигенотерапию в режиме 1,5 АТА, толщина кортикальной пластинки последовательно увеличивалась: на 10-е сутки она была на 14% больше, а к 90 суткам – на 40% относительно контроля ( $p \leq 0,001$ ).

Кортикальный индекс (КИ) у крыс, получивших курс ГБО в режиме 2,0 АТА, через 30-60 суток был больше на 13-15%, чем в контроле, но, начиная с 90 суток, этот показатель не отличался от контрольной группы. У крыс, получивших ГБО в режиме 1,5 АТА, КИ последовательно увеличивался в течение всего периода наблюдения и уже через 10 суток после ГБО был больше на 12% по сравнению с контролем. В последующие сроки наблюдения КИ соответственно был больше на 23% (30 суток), 34% (60 суток), 39% (90 суток) больше, чем у животных, контрольной группы. К 120 суткам наблюдения КИ в этой серии составил 31% относительно контроля ( $p \leq 0,001$ ).

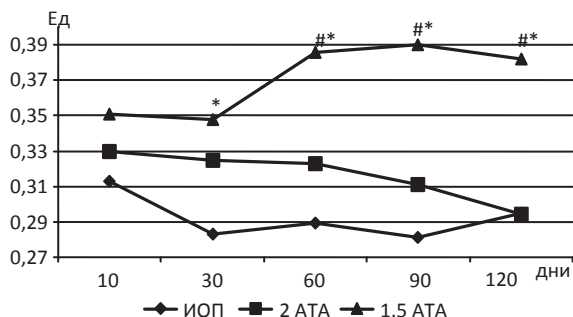


Рис. 1. Динамика кортикального индекса бедренной кости оперированной конечности после ГБО в разных режимах. Примечания: # –  $p \leq 0,01$  по сравнению с 2 АТА; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с ИОП.

Губчатая костная ткань бедра интенсивно отреагировала на ГБО. Однако увеличение объемной плотности кости при давлении 2,0 АТА было выражено в несколько меньшей степени, чем при 1,5 АТА, когда уже с 10 суток после завершения оксигенотерапии объемная плотность кости метафизов бедра была на 23% достоверно выше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ), и сохранялась высокой в течение 60 суток после завершения курса ГБО.

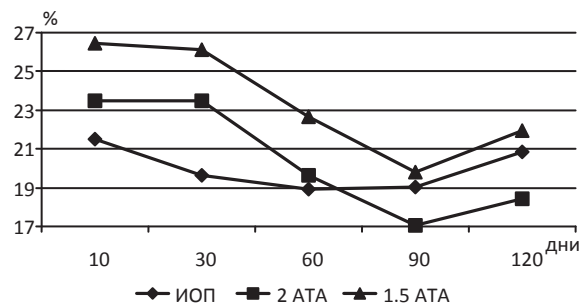


Рис. 2. Динамика объемной плотности метафизов бедренной кости оперированной конечности после ГБО в разных режимах. Примечания:  $p < 0,0001$  на всех сроках исследования по сравнению с 2 АТА;  $p < 0,001$  на всех сроках исследования по сравнению с ИОП.

Следует отметить, что именно у животных, получивших сеансы ГБО при давлении 1,5 АТА, выявлен не только более выраженный количественно эффект утолщения корковой пластинки, увеличения КИ и объемной плотности губчатой кости, но и более пролонгированное воздействие гипербарического кислорода на костную ткань, которое сохранялось в 2 раза дольше, чем при 2,0 АТА. Таким образом, результаты морфологического исследования выявили благоприятное воздействие ГБО-терапии на анатомо-структурные параметры остеопоротически перестроенной костной ткани.

В проведенном эксперименте изучили влияние разных режимов ГБО на метаболические показатели при ИОП. В режиме ГБО 1,5 АТА активность костной фракции ЩФ оставалась стабильно высокой во все сроки наблюдения, а при 2,0 АТА ее рост был кратковременным (30 суток) с последующим снижением аналогично показателям контрольной группы.

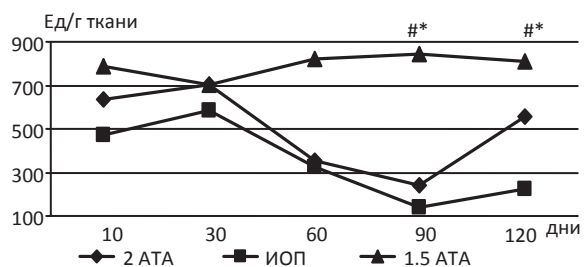


Рис. 3. Динамика активности щелочной фосфатазы в костной ткани оперированной конечности после ГБО в режимах 1,5 и 2 АТА. Примечания: # –  $p \leq 0,01$  по сравнению с 2 АТА; \* –  $p < 0,01$  по сравнению с ИОП.

Наибольшая активность малатдегидрогеназы (показатель аэробного окисления) обнаружена у животных, получивших ГБО в режиме 1,5 АТА, причем на 90-120 сутки она была выше в 2-5 раз ( $p < 0,01$ ), чем в режиме 2,0 АТА.

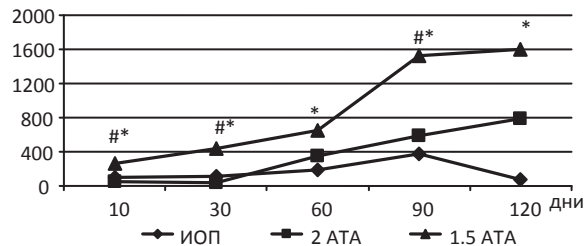


Рис. 4. Динамика общей активности малатдегидрогеназы в костной ткани оперированной конечности после ГБО в режимах 1,5 и 2 АТА. Примечания: # –  $p < 0,01$  по сравнению с 2 АТА; \* –  $p < 0,01$  по сравнению с ИОП.

Анализ минерального обмена в костных гомогенатах показал, что наибольшее накопление кальция и неорганического фосфата в оперированной конечности отмечено при ГБО в режиме 1,5 АТА. Так, в период 60-90 суток содержание кальция было достоверно выше в 2,5 раза, фосфата в 5,1 раза и магния в 4,8 раза.

Эти данные свидетельствуют, что при ИОП ГБО благоприятно влияет на костное ремоделирование, причем наибольший эффект отмечен при режиме 1,5 АТА, что подтверждает известную концепцию, определяющую гипербарический кислород как мощный адаптоген, влияющий на органном, клеточном, субклеточном и ультраструктурном уровнях [7,11].

На основании результатов проведенного экспериментального исследования авторами был разработан способ немедикаментозной коррекции ИОП [13]. Использование его у больных с несращениями костей на фоне сопутствующего ИОП позволило в комплексе с хирургическим лечением сократить сроки консолидации отломков на 31% и увеличить костную массу в поврежденной конечности пациентов на 12,6% уже через год после операции [4].

#### Выводы.

1. Применение оксигенобаротерапии при ИОП способствует оптимизации нарушенного ремоделирования костной ткани за счет выраженного торможения в ней ре-

зорбции при одновременной стимуляции костеобразовательных процессов. Наиболее значимым этот эффект оказался при использовании щадящего режима ГБО терапии (1,5 АТА).

2. Новый способ коррекции ИОП с помощью оксигенобаротерапии может использоваться у пациентов ортопедо-травматологического профиля как самостоятельно, так и в комплексе с хирургическими технологиями. Простота, доступность и эффективность этого способа позволяют рекомендовать его для широкого клинического применения.

#### Литература

1. Баишев И.С. Влияние гипербарической оксигенации на морфофункциональное состояние тканей // Гипербарическая физиология и медицина. – 2002. – №1. – С.25.
2. Вохмякова Т.В., Кулешов В.М., Овденко А.Г., Тихилов Р.М. ГБО в комплексном лечении больных с повреждениями опорно-двигательного аппарата // Гипербарическая физиология и медицина. – 2002. – №1. – С.27.
3. Гюльназарова С.В., Кузнецова О.А. Оссеин-гидроксиапатитный комплекс в лечении больных с псевдоартрозами бедра и костей голени, осложненными системным остеопорозом // Вестн. травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2006. – №2. – С.21-24.
4. Гюльназарова С.В., Кучиев А.Ю. Возможности гипербарической оксигенации в коррекции сниженной минеральной плотности кости у больных с несращениями переломов // Травматология и ортопедия России. – 2007. – №3. – С.27-30.
5. Десятниченко К.С. Биохимические исследования зрелой костной ткани и дистракционного регенерата: инф.письмо / ВКНЦ «ВТО»; сост: К.С. Десятниченко. – Курган, 1992. – 13с.
6. Ивченко В.К., Лузин В.И., Кучеренко С.Л. Обоснование применения КВЧ терапии в комплексном лечении переломов длинных трубчатых костей на фоне остеопороза у лиц пожилого возраста // Проблемы остеологии: научно-практический журнал. – 1999. – Т.2, №3. – С. 127.
7. Киселев С.О. Принцип действия ГБО на организм // Гипербарическая физиология и медицина. – 2002. – №2. – С. 3-7.
8. Корж Н.А., Горидова Л.Д. Остеопороз и особенности хирургического лечения переломов // Проблемы остеологии. – 2001. – Т.4, №1-2. – С. 77-78.
9. Котельников Г.П., Яшков А.В. Гравитационная терапия / М.: Медицина, 2003. – 244 с.
10. Краснов А.Ф., Давыдкин Н.Ф. Гипербарическая оксигенация при лечении переломов / Самара: Изд-во Саратовского Университета, 1991. – 133 с.
11. Леонов А.Н. Гипероксия. Адаптационно-метаболическая концепция саногенеза // Бюллетень гипербарической биологии и медицины. – Воронеж. 1994. – Т.2, №3-4. – С. 40-68.

12. Куликович Ю.Н., Дзяк Г.В., Ильина О.Б. Опыт безмедикаментозного лечения остеопороза // Проблемы остеологии. – 1999. – Т.2, №3. – С. 119.
13. Пат. 2346680 Российская Федерация, МПК А 61 G 10/02. Способ коррекции нарушенного ремоделирования костной ткани при иммобилизационном остеопорозе / Гюльнарзова С.В., Кучиев А.Ю., Трифонова Е.Б., Журавлева В.Е.; опубл.20.02.2009, Бюл. №5. – 5 с.
14. Родионова С.С., Колондаев А.Ф., Соколов В.А. Остеогенон в лечении пациентов с первичным остеопорозом и травматическими переломами // Проблемы остеопороза в травматологии и ортопедии: тезисы II научно-практической конференции с международным участием, Москва, 12-13 февраля 2003 г. – М.: ЦИТО, 2003. – С. 105-107.
15. Суярова Е.Д., Беляевский В.А. К обоснованию целесообразности и допустимости применения ГБО при скелетной травме в условиях осуществленного остеосинтеза // Гипербарическая физиология и медицина. – 2005. – №1. – С. 38-43.
16. Шевцов В.И., Николайчук Е.В., Сазонова Н.В. и др. Гипербарическая оксигенация в комплексном лечении больных методом чрескостного остеосинтеза в клинике травматологии и ортопедии // Вопросы гипербарической медицины: тезисы Третьей Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы клинической гипербарической оксигенации», Москва. – М., 2007. – №1-2. – С. 10-11.
17. Feldmeier J.J., Heimbach R.D., Davolt D.A. et al. Hyperbaric oxygen in the treatment of delayed radiation injuries of the extremities // Undersea Hyperb. Med. – 2000. – 27, №1. – P. 15-19.
18. Greensmith J.E. Hyperbaric oxygen therapy in extremity trauma // J.Am.Acad.Orthop.Surg. – 2004. – №12(6). – P. 376-384.
19. Karamitros A.E., Kalentzos V.N., Soucacos P.N. Electric stimulation and hyperbaric oxygen therapy in the treatment of nonunions // Injury. – 2006. – 37, Suppl.1. – P. 63-73.

#### HYPERBARIC OXYGEN THERAPY AND BONE REMODELING IN EXPERIMENTAL IMMOBILIZING OSTEOPOROSIS

Gyulnazarova S.V., Kuchiev A.U., Kudriavtseva I.P., Trifonova E.B.

**Summary.** This article is devoted to the research results of experimental immobilizing osteoporosis in laboratory rats and hyperbaric oxygen influence on them. Bone remodeling was optimized after hyperbaric oxygen therapy as a result of bone osteogeny intensification and reduction of its resorption on background of favorable bioenergy with simultaneous mineralization of bone matrix.

**Key words:** bone remodeling; immobilizing osteoporosis; hyperbaric oxygen therapy.