

УДК 611.018.4⁷⁴⁵

О.И. Шабельник, В.И. Лузин ФАЗОВЫЙ СОСТАВ БИОМИНЕРАЛА ТАЗОВОЙ КОСТИ У БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ 60-ДНЕВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННОЙ ГИПЕРТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Шабельник О.И., Лузин В.И. Фазовый состав биоминерала тазовой кости у белых крыс после 60-дневного воздействия экзогенной гипертермии различной степени и физической нагрузки // Украинський морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 91-95.

В эксперименте на 630 белых крысах различного возраста исследован фазовый состав костного биоминерала после 60-дневной экзогенной гипертермии различной степени (экстремальной - 44,1-45,3°C, средней - 42,0-43,1°C и умеренной - 39,6-40,9°C). Показано, что экстремальная и средняя степень гипертермии сопровождается увеличением степени аморфности костного биоминерала. Сочетание гипертермии с физической нагрузкой усугубляет нарушения фазового состава.

Ключевые слова: крысы, экзогенная гипертермия, кости, биоминерал, фазовый рентгеноструктурный анализ.

Шабельник О.І., Лузін В.І. Фазовий склад біомінерала кульшової кістки у білих щурів після 60-денного впливу екзогенної гіпертермії різного ступеня та фізичного навантаження // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 91-95.

В експерименті на 630 білих щурах різного віку досліджений фазовий склад кісткового біомінерала після 60-денної екзогенної гіпертермії різного ступеня (екстремальної - 44,1-45,3°C, середньої - 42,0-43,1°C і помірної - 39,6 - 40,9°C). Показано, що екстремальна і середня ступінь гіпертермії супроводжується збільшенням ступеня аморфності кісткового біомінерала. Посилення гіпертермії з фізичним навантаженням посилює порушення фазового складу.

Ключові слова: щури, екзогенна гіпертермія, кістки, біомінерал, фазовий рентгеноструктурний аналіз.

Shabelnik O.I., Luzin V.I. Phase composition of hip bone biomineral in white rats after 60-day exposure to exogenous hyperthermia of varying degrees and physical activity // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 91-95.

In the experiment on 630 white rats of different ages studied bone biomineral phase composition after a 60-day exogenous hyperthermia of varying degrees (extreme - 44,1-45,3°C, average - 42,0-43,1°C and moderate - 39,6-40,9°C). It is shown that the extreme and mean hyperthermia accompanied by increasing degree of amorphous bone biomineral. The combination of hyperthermia with physical activity exacerbates disorders phase composition.

Key words: rats, exogenous hyperthermia, bone biomineral, phase X-ray analysis.

Известно, что экзогенная хроническая гипертермия (ЭХГ) вызывает нарушение функции различных систем органов. ЭХГ в сочетании с физическими нагрузками наблюдается у шахтеров и рабочих металлургических предприятий, используется в комплексном лечении разнообразных хронических, воспалительных и онкологических заболеваний [2, 8, 12]. При этом режим воздействия ЭХГ на организм человека чрезвычайно разнообразен [3, 9].

Скелет активно реагирует на изменения как окружающей, так и внутренней среды на всех уровнях своей организации. Имеются единичные экспериментальные исследования, показывающие, что условия экстремальной ЭХГ оказывают негативное влияние на морфогенез костной системы белых крыс репродуктивного возрастного периода, на процессы роста, формообразование и гистологическое строение нижней челюсти на различных этапах постнатального онтогенеза [5].

Однако, сведения о возрастных особенностях влияния ЭХГ различной степени в сочета-

нии с физической нагрузкой на морфогенез костной системы отсутствуют.

Исходя из этого, **цель данного исследования** – изучить в эксперименте фазовый состав биоминерала тазовых костей у белых крыс различного возраста после 60-дневного воздействия экзогенной хронической гипертермии различной степени в сочетании с динамической физической нагрузкой.

Связь работы с научными программами, планами, темами: Работа является фрагментом НИР ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» „Влияние хронической гипертермии и физической нагрузки на морфогенез органов иммунной, эндокринной и костной систем организма” (государственный регистрационный номер 0107U004485).

Материалы и методы. Исследование проведено на 630 белых беспородных крысах-самцах трех возрастных групп: неполовозрелых (исходной массой 45-50 г), репродуктивного возраста (150-160 г) и периода старческих изменений (300-320 г). Во время эксперимента крысы

содержались в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986 г.) [1, 11]. Животные были распределены на 6 групп: 1 (К) – группа интактных животных (группа сравнения). 2-4 – группы животных, которые на протяжении 60 суток ежедневно по 5 часов находились под влиянием повышенной температуры в специальной термической камере. 2 группа – животные находились под влиянием температуры 44,1-45,3 °С (режим экстремальной хронической гипертермии (ЭГ)). 3 (СГ) – животные находились под влиянием температуры 42,0-43,1 °С (режим хронической гипертермии средней степени); 4 (УГ) – животные находились под влиянием температуры 39,6 - 40,9 °С (режим умеренной хронической гипертермии). Животные 5-6-й групп подвергались сочетанному воздействию: режим ЭГ либо СГ на фоне динамической физической нагрузки (плавание в бассейне в течение 15-20 минут).

По истечении сроков эксперимента (1, 7, 15, 30 и 60 дней после окончания воздействия условий эксперимента) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли тазовые кости и исследовали методом рентгеноструктурного анализа. Исследование порошка костного вещества, полученного в агатовой ступке, проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5. Использовали К α излучение меди с длиной волны 0,1542 нМ; напряжение и сила анодного тока составляли соответственно 30 кВ и 20 А. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от 2° до 37° со скоростью записи 1° в 1 минуту [7, 10]. На полученных дифрактограммах исследовали содержание в костном минерале основных составляющих: витлокита (аморфного фосфата кальция), кальцита (карбоната кальция) и гидроксилapatита по методу внутреннего контроля [6].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [4].

Результаты и их обсуждение. У интактных неполовозрелых крыс в ходе наблюдения биоминерал тазовой кости характеризовался достаточно высокой степенью аморфности, которая по мере увеличения возраста животных постепенно снижалась.

Содержание карбоната кальция (кальцита) в биоминерале тазовой кости неполовозрелых интактных крыс за период с 1 по 60 день наблюдения уменьшилось с 14,02±0,28% до 13,23±0,24%, а содержание аморфного бета-трикальцийфосфата (витлокита) – с 18,01±0,14% до 17,28±1,67%. При этом содержание в биоминерале тазовой кости кристалли-

ческого фосфата кальция (гидроксилapatита) в ходе наблюдения увеличивалось с 67,97±0,59% до 69,49±0,79%.

У интактных крыс репродуктивного возрастного периода процессы снижения степени аморфности биоминерала тазовой кости продолжались.

За период с 1 по 60 день наблюдения содержание кальцита в биоминерале тазовой кости половозрелых интактных крыс за период с 1 по 60 день наблюдения уменьшилось с 13,41±0,21% до 12,96±0,26%, а содержание витлокита – с 15,53±0,21% до 15,01±0,11%. При этом содержание в биоминерале тазовой кости кристаллического фосфата кальция (гидроксилapatита) в ходе наблюдения увеличивалось с 71,06±0,70% до 72,03±0,46%.

В период инволютивных изменений у интактных крыс динамика изменений фазового состава биоминерала тазовой кости была следующей. Содержание кальцита в ходе периода наблюдения с 1 по 60 день увеличивалось с 12,66±0,13% до 13,34±0,27%, а содержание витлокита – соответственно с 14,15±0,17% до 14,84±0,17%. При этом доля кристаллического фосфата кальция в ходе наблюдения уменьшалась с 73,19±0,55% до 71,82±0,59%.

Увеличение степени аморфности костного биоминерала у интактных крыс свидетельствует о развитии у них явлений сенильного остеопороза.

В том случае, когда неполовозрелые крысы в течение 60-ти дней ежедневно в течение 5 часов находились в термической камере при температуре 44,1-45,3 °С (экстремальный режим хронической гипертермии, 2-я группа), фазовый состав биоминерала тазовой кости характеризовался увеличением степени аморфности.

На 1 день после окончания воздействия условий 2-й группы нашего эксперимента содержание кальцита в биоминерале тазовой кости было больше значений 1-й группы на 8,97%, а содержание витлокита – на 11,03%. В то же время процентное содержание гидроксилapatита было меньше контрольного на 4,77%.

В период реадaptации после воздействия условий 2-й группы эксперимента у неполовозрелых крыс изменения фазового состава биоминерала тазовой кости сохранялись до 15 дня наблюдения, после чего нивелировались.

На 7 и 15 день наблюдения содержание кальцита в биоминерале тазовой кости было больше значений 1-й группы на 8,57% и 7,32%, а содержание витлокита – на 9,28% и 7,39%. В то же время процентное содержание гидроксилapatита было меньше контрольного на 4,20% и 3,40%.

У животных репродуктивного возрастного периода на 1 день после окончания воздействия условий 2-й группы нашего эксперимента также отмечалось увеличение степени аморфности

биоминерала тазової кости, но виражено оно було менше, ніж у неповнозрілих білих крыс.

Доля витлокита при цьому була більше значень 1-ї групи на 8,16%, а доля кальцита – на 8,17%. Процентне вміщення в костному біомінералі гідроксилапатиту в результаті було менше контрольної на 3,33%.

В періоді реадaptaції після впливу умов 2-ї групи експерименту відхилення в фазовому складі костного біомінерала незначительно згладжувалися, достовірні відхилення від показувачів 1-ї групи зберігалися і на 60 день спостереження.

Процентне вміщення кальцита було більше контрольних значень 1-ї групи в усі встановлені терміни спостереження відповідно на 8,50%, 7,35%, 6,45% і 6,54%, а процентне вміщення витлокита з 7 по 30 день – на 7,50%, 7,61% і 6,09%. При цьому частка кристалічного фосфату кальцію була менше контрольних показувачів в усі встановлені терміни спостереження відповідно на 3,22%, 3,01%, 2,46% і 1,65%.

В тому випадку, коли впливу умов 2-ї групи експерименту піддавалися підопитні тварини вікового періоду інволютивних змін, на 1 день спостереження частка витлокита в біомінералі тазової кости була більше значень 1-ї групи на 7,66%, а частка кальцита – на 7,33%. Вміщення гідроксилапатиту в костному біомінералі було менше контрольної на 2,75%.

Виявлені відхилення фазового складу були схожі з такими в молодших вікових групах, але виражені були небагато менше. Однак, в періоді реадaptaції після впливу умов 2-ї групи експерименту фазовий склад костного біомінерала у крыс старшого віку практично не відновлювався.

Вміщення витлокита в біомінералі тазової кости було більше, ніж в однорічному контролі (1-я група) в усі встановлені терміни спостереження відповідно на 7,79%, 7,00%, 6,03% і 5,97%, а вміщення кальцита – на 6,64%, 8,00%, 8,05% і 6,85%. Процентне вміщення гідроксилапатиту було менше значень 1-ї групи також в усі терміни спостереження відповідно на 2,67%, 2,77%, 2,63% і 2,51%.

В тому випадку, коли підопитні тварини впродовж 60-ти днів щодня впродовж 5 годин перебували в термічній камері при температурі 42,0-43,1 °С (хронічна гіпертермія середньої ступені, 3-я група), біомінерал тазової кости також, як і в 2-ї групі характеризувався збільшенням ступені аморфності, але небагато меншою ступеню.

На 1 день після закінчення впливу умов 3-ї групи нашого експерименту вміщення витлокита в біомінералі тазової кости

неповнозрілих крыс було більше, ніж в 1-ї групі, на 8,61%, а вміщення кальцита – на 8,12%. При цьому вміщення гідроксилапатиту було менше контрольної на 3,96%.

В періоді реадaptaції після впливу умов 3-ї групи експерименту у неповнозрілих крыс зміни фазового складу костного біомінерала згладжувалися швидше, ніж в 2-ї групі, і вже після 15 днів спостереження достовірні відхилення від показувачів 1-ї групи не спостережувалися.

Вміщення витлокита в біомінералі тазової кости було більше значень 1-ї групи на 7 і 15 день спостереження на 5,54% і 5,38%, а вміщення кальцита – на 6,48% і 4,86%. При цьому частка гідроксилапатиту в ті ж терміни була менше значень 1-ї групи на 2,79% і 2,38%.

В цілому аналогічна тенденція спостережувалася після впливу умов 3-ї групи експерименту і у тварин репродуктивного віку: збільшення ступені аморфності костного біомінерала, яке достатньо швидко відновлювалося і після 15 днів спостереження достовірні відхилення від показувачів 1-ї групи не спостережувалися.

Вміщення витлокита було більше контрольних показувачів 1-ї групи з 1 по 15 день спостереження відповідно на 6,81%, 7,02% і 5,93%, а вміщення кальцита – на 7,61%, 6,79% і 6,55%. Частка гідроксилапатиту в ті ж терміни була менше значень 1-ї групи відповідно на 2,92%, 2,80% і 2,50%.

Після впливу умов 3-ї групи нашого експерименту на підопитних тварин вікового періоду інволютивних змін ступеню аморфності костного біомінерала також зростала. На 1 день спостереження вміщення в костному біомінералі витлокита і кальцита було більше контрольної на 7,38% і 6,76%, а частка гідроксилапатиту – менше на 2,60%.

Однак, в періоді реадaptaції після впливу умов 3-ї групи експерименту відновлення фазового складу біомінерала тазової кости відбувалося повільно, ніж у неповнозрілих і повнозрілих крыс. Достовірні відхилення досліджуваних показувачів від значень 1-ї групи зберігалися впродовж 30 днів спостереження.

Вміщення витлокита в біомінералі тазової кости у крыс старшого віку було більше значень 1-ї групи з 7 по 30 день спостереження відповідно на 7,71%, 7,06% і 5,32%, а вміщення кальцита – на 6,40%, 7,31% і 6,07%. Процентне вміщення кристалічного фосфату кальцію в біомінералі тазової кости при цьому зменшувалося: в періоді з 7 по 30 день спостереження воно було менше значень 1-ї групи відповідно на 2,61%, 2,67% і 2,14%.

В тому випадку, коли підопитні тварини всіх вікових груп впродовж 60-ти днів

ежедневно в течение 5 часов находились в термической камере при температуре 39,6 - 40,9 °С (умеренная хроническая гипертермия, 4-я группа), фазовый состав биоминерала тазовой кости, в отличие от 2-3-й групп, от значений 1-й группы нашего эксперимента достоверно не изменялся.

Сочетание условий 60-дневной экстремальной и средней хронической гипертермии с физической нагрузкой (5-6-я группы нашего эксперимента, животные плавали в бассейне по 15-20 минут, находясь в термической камере) сопровождалось усилением негативного влияния условий эксперимента на фазовый состав биоминерала тазовой кости во всех возрастных группах.

У неполовозрелых крыс после воздействия условий 5-й группы эксперимента на 1 день наблюдения содержание кальцита в биоминерале тазовой кости было больше, чем во 2-й группе, на 4,20%, а доля гидроксилapatита – меньше на 1,30%.

В период реадaptации после воздействия условий 5-й группы эксперимента восстановление фазового состава костного биоминерала также происходило медленнее, чем во 2-й группе.

В период с 7 по 30 день наблюдения доля кальцита в биоминерале тазовой кости была больше, чем во 2-й группе, соответственно на 6,06%, 8,16% и 5,76%, а доля гидроксилapatита – меньше на 1,93%, 2,55% и 1,47%.

У репродуктивных животных после воздействия условий 5-й группы эксперимента изменения фазового состава биоминерала тазовой кости были выражены значительно сильнее, чем у неполовозрелых крыс.

На 1 день после окончания воздействия условий 5-й группы эксперимента содержание витлокита было больше, чем во 2-й группе на 3,62%, а содержание кальцита – на 5,52%. Доля гидроксилapatита в биоминерале тазовой кости была меньше, чем во 2-й группе на 2,05%.

В период реадaptации после воздействия условий 5-й группы эксперимента у половозрелых крыс изменения фазового состава постепенно сглаживались, но и на 60 день наблюдения сохранялись достоверные отличия большинства показателей от 2-й группы.

Содержание кальцита было больше, чем аналогичные показатели во 2-й группе, во все установленные сроки наблюдения соответственно на 5,46%, 7,74%, 6,62% и 6,48%, а содержание кристаллического фосфата кальция – меньше на 2,52%, 2,54%, 2,64% и 1,53%. Быстрее всего восстанавливалось содержание витлокита в биоминерале тазовой кости – оно было больше значений 2-й группы лишь на 7 и 15 день наблюдения – на 5,70% и 3,96%.

После 60-дневного воздействия условий 5-й группы эксперимента на подопытных животных

старческого возраста степень аморфности биоминерала тазовой кости также возрастала. На 1-й день наблюдения содержание в костном биоминерале кальцита было больше значений 2-й группы на 4,64%, а содержание гидроксилapatита – меньше на 1,71%.

В период реадaptации после воздействия условий 5-й группы эксперимента выявленные изменения фазового состава биоминерала тазовой кости у белых крыс периода инволютивных изменений практически не восстанавливались.

Содержание кальцита в костном биоминерале было больше показателей 2-й группы во все установленные сроки эксперимента соответственно на 5,76%, 5,45%, 5,63% и 4,51%, а доля гидроксилapatита – меньше на 1,92%, 1,93%, 1,94% и 1,32%.

У неполовозрелых крыс после воздействия условий 6-й группы эксперимента (сочетание хронической гипертермии с физической нагрузкой) на 1 день наблюдения содержание кальцита в биоминерале тазовой кости было больше, чем во 2-й группе, на 3,68%, а доля гидроксилapatита – меньше на 1,51%.

Однако, восстановление фазового состава костного биоминерала происходило значительно быстрее, чем 5-й группе. В период реадaptации после воздействия условий 6-й группы эксперимента у неполовозрелых крыс лишь на 7 день наблюдения доля витлокита была больше значений 2-й группы эксперимента на 6,17%, а доля гидроксилapatита – меньше на 2,61%.

У животных репродуктивного возрастного периода после окончания воздействия условий 6-й группы эксперимента содержание витлокита и кальцита в биоминерале тазовой кости было больше, чем во 2-й группе, на 4,33% и 4,47%, а содержание гидроксилapatита – меньше на 1,98%.

В период реадaptации после воздействия условий 6-й группы эксперимента содержание в биоминерале тазовой кости кристаллического фосфата кальция было меньше значений 2-й группы с 7 по 30 день наблюдения – соответственно на 2,26%, 2,29% и 1,18%. При этом содержание в костном биоминерале аморфных составляющих (витлокита и кальцита) было больше значений 2-й группы на 7 и 15 день наблюдения соответственно на 4,63% и 3,70%, и на 5,61% и 7,03%.

После окончания воздействия условий 6-й группы нашего эксперимента на белых крыс периода инволютивных изменений на 1 день наблюдения содержание витлокита и кальцита в биоминерале тазовой кости было больше значений 2-й группы на 3,52% и 4,81%, а содержание гидроксилapatита – меньше на 1,67%.

В периода реадaptации после воздействия условий 6-й группы эксперимента у крыс старческого возраста содержание в костном биоминерале гидроксилapatита было меньше значе-

ний 2-й групы с 7 по 30 день наблюдения на 1,71%, 1,51% и 1,62%, а содержание кальцита – на 7 и 15 день – больше на 4,60% и 4,28%. Из этого следует, что и в данной возрастной группе восстановление фазового состава происходит быстрее, чем в 5-й группе нашего эксперимента.

Выводы:

1. Ежедневно воздействие экзогенной хронической гипертермии в течение 60-ти дней у белых крыс сопровождается увеличением степени аморфности биоминерала тазовых костей, выраженность которого зависит от режима гипертермии и возраста подопытных животных.

2. Максимальная степень аморфности биоминерала тазовой кости наблюдалась после воздействия условий экстремальной хронической гипертермии, а после воздействия умеренной гипертермии достоверные отличия от контроля во всех возрастных группах не определялись.

3. В период реадaptации после воздействия экзогенной хронической гипертермии темпы восстановления фазового состава костного биоминерала также зависели от возраста животных и режима гипертермии. Быстрее всего восстанавливались нарушения фазового состава костного биоминерала у неполовозрелых крыс, а в период инволютивных изменений явления восстановления были крайне незначительны.

4. Сочетание хронической гипертермии как экстремальной, так и средней степени, с физической нагрузкой, сопровождалось манифестацией выявленных изменений, как непосредственно после окончания воздействия, так и в период реадaptации.

Перспективы дальнейших исследований.

Полученные результаты позволяют предполагать изменения химического состава костей после воздействия хронической экзогенной гипертермии различной степени в сочетании с физической нагрузкой. Поэтому следующим этапом нашего исследования будут биохимические исследования.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Западнюк В.Г. Лабораторные животные / В.Г. Западнюк, И.П. Западнюк, Е.А. Захария. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
2. Карнаух Н. Г. Оценка роли условий труда в развитии заболеваний костно-мышечной системы у рабочих железорудной промышленности / Н. Г. Карнаух, В. М. Шевцова, Т. П. Куликова // Лікарська справа. – 2003. - № 2. – С. 89-91.
3. Ковешников В.Г. Особенности адаптационной перестройки лимфоидных органов при экстремальной хронической гипертермии / В.Г. Ковешников, Е.Ю.Бибик // Морфология.- 2008.- Т. 133.- № 2. -С. 63-68.
4. Лапач С.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морион, 2002. – 160 с.
5. Лузин В.И. Особенности роста костей скелета белых крыс, подвергшихся воздействию экстремальной хронической гипертермии в сочетании с физической нагрузкой и возможным корректором инозином / В.И. Лузин, С.М. Смоленчук // Український морфологічний альманах. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 52-56.
6. Лузин В.И. Применение рентгеноструктурного анализа для исследования фазового состава костного минерала / В.И. Лузин // Український морфологічний альманах. – 2005. - Том 3, №4. – С. 61-64.
7. Миркин А.И. Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство / А.И. Миркин. – М.: Наука, 1981. – 496 с.
8. Овчаренко В. В. Макро-, мікро- та ультраструктурні особливості будови селезінки щурів після впливу хронічної гіпертермії екстремального ступеню вираженості в поєднанні з фізичним навантаженням / В.В. Овчаренко // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Том 7, №3. – С.94-98.
9. Осинский С. П. Гипертермия в комплексном лечении онкологических больных / С. П. Осинский // Doctor. - 2003. - № 4. - С.35-37.
10. Подрушняк Е.П. Ультраструктура минерального компонента и прочность костной ткани позвонков у людей различного возраста / Е.П. Подрушняк, А.И. Новохацкий // Ортопедия травматология и протезирование. – 1983. – №8. – С. 15-18.
11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986. - 52 p.
12. Ostberg J. R. Comparison of the effects of two different whole body hyperthermia protocols on the distribution of murine leukocyte populations /J. R. Ostberg, E. A. Repasky // International Journal of Hyperthermia.- 2000 .- Vol. 16, № 1.- P. 29 - 43

Надійшла 21.08.2013 р.

Рецензент: проф. С.А. Кашенко