

УДК 615:591.471.42"46"

© Лузин В.И., Кочубей А.А., 2011

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ БИОМИНЕРАЛОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ТИМЭКТОМИИ****Лузин В.И., Кочубей А.А.***ГУ «Луганский государственный медицинский университет»*

**Лузин В.И., Кочубей А.А.** Возрастные особенности ультраструктуры биоминералов нижней челюсти белых крыс в условиях тимэктомии // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №3. – С. 168-170.

В эксперименте на 180 белых крысах трех возрастных групп исследовали ультраструктуру биоминералов нижней челюсти после тимэктомии. Установили, что условия тимэктомии сопровождаются дисбалансом ультраструктуры биоминералов, как костного вещества, так и зубов нижней челюсти. Это проявлялось в увеличении размеров элементарных ячеек и кристаллитов, а также уменьшении коэффициента микротекстурирования, нарастающих по мере увеличения срока эксперимента. Выраженность отклонений зависела от возраста подопытных животных.

**Ключевые слова:** крысы, онтогенез, нижняя челюсть, ультраструктура биоминерала, тимэктомия.

**Лузин В.И., Кочубей О.О.** Вікові особливості ультраструктури біомінералів нижньої щелепи білих щурів в умовах тимектомії // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №3. – С. 168-170.

В експерименті на 180 білих щурах трьох вікових груп досліджували ультраструктуру біомінералів нижньої щелепи після тимектомії. Встановили, що тимектомія супроводжується дисбалансом ультраструктури біомінералу, як кісткової речовини, так і зубів нижньої щелепи. Це проявлялося в збільшенні розмірів елементарних комірок і кристалітів та зменшенні коефіцієнту микротекстурирования, наростаючих в міру збільшення терміну експерименту. Виразність відхилень залежала від віку піддослідних тварин.

**Ключові слова:** щури, онтогенез, нижня щелепа, ультраструктура біомінералу, тимектомія.

**Luzin V.I., Kochubey A.A.** Age features of mandible biominerals ultrastructure in white rats at influence of thymectomy // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №3. – С. 168-170.

In experiment on 180 white rats of three age-grades investigated a biominerals ultrastructure of a mandible at introduction of thymectomy. Found that thymectomy is accompanied by an imbalance of the biomineral ultrastructure as the bone substance and teeth of the lower jaw. This manifested itself in increasing of sizes of elementary cells and crystallites and decreasing of a microtexturation coefficient, increasing with increasing period of the experiment. The severity of the deviations depended on the age of experimental animals.

**Key words:** rats, ontogenesis, mandible, biomineral ultrastructure, thymectomy.

В последние годы ухудшение экологической обстановки, усиление стрессорных влияний, возрастание урбанизации сопровождается увеличением количества разнообразных иммунореактивных состояний у населения [4, 10]. Имеется значительное количество сведений о состоянии различных органов и систем организма, в том числе и костной, при различных иммунореактивных состояниях [3, 5]. Однако информация о состоянии скелета, а особенно челюстно-лицевых структур в условиях угнетения клеточного звена иммунной системы до сих пор до конца не систематизирована.

**Цель данного исследования:** изучить ультраструктуру биологических минералов костного вещества и зубов нижней челюсти белых крыс различного возраста после тимэктомии. Исследование является фрагментом научно-исследовательской работы кафедры анатомии человека Луганского государственного медицинского университета «Морфогенез органов эндокринной, иммунной и костной систем под воздействием экологических факторов» (№ государственной регистрации 0110U005043).

**Материал и методы исследования.** Эксперимент был проведен на 180 белых крысах трех возрастных групп: неполовозрелых (исходной массой 35-40 г), половозрелых (130-140 г) и периода выраженных старческих изменений (310-320 г). Тимэктомию производили крысам всех возрастных групп хирургическим способом [2]. В качестве контрольной группы использовали ложнотимэктомированных животных.

Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [12].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 90 и 180 дней) выделяли и очищали от мягких тканей нижние челюсти, после чего разделяли костное ве-

щество и зубы, растирали их в порошок в агатовой ступке и исследовали методом рентгеноструктурного анализа [9]. Исследования проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5, использовали  $K\alpha$  излучение меди с длиной волны 0,1542 нм. Напряжение и сила тока на рентгеновской трубке составляли соответственно 30 кВ и 10 мА. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от  $3^\circ$  до  $37^\circ$  со скоростью записи 10 мм в 1 мин. На полученных дифрактограммах исследовали наиболее выраженный дифракционный пик, расположенный в угловом диапазоне 30-34°, определяли его амплитуду [8]; по угловому положению дифракционных пиков рассчитывали межплоскостные расстояния в кристаллах гидроксилпатита [10]. Вычисляли размеры блоков когерентного рассеивания (кристаллитов) по формуле Селякова-Шерера [8], рассчитывали коэффициент микротекстурирования по методу соотношения рефлексов [1] и определяли параметры кристаллической решетки гидроксилпатита с учетом гексагональной сингонии кристаллов [8, 10].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [7].

**Результаты и их обсуждение.** Оценка полученных результатов проводилась при обязательном сопоставлении с показателями ложнотимэктомированных животных (контрольная группа). У ложнотимэктомированных неполовозрелых крыс размеры элементарных ячеек костного гидроксилпатита в ходе наблюдения увеличивались: вдоль оси  $a$  с  $9,362 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$  М до  $9,377 \pm 0,004 \cdot 10^{-10}$  М, а вдоль оси  $c$  – с  $6,822 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$  М до  $6,840 \pm 0,002 \cdot 10^{-10}$  М. В результате соотношение размеров  $c/a$  также увеличивалось с  $72,86 \pm 0,02 (10^2)$  до  $72,95 \pm 0,03 (10^2)$ . Размеры блоков когерентного рассеивания с 7 по 180 день наблюдения увеличивались с  $35,33 \pm 0,54$  нМ до

41,20±0,80 нМ, а коефіцієнт мікротекстурирования – с 0,3157±0,0099 у.е. до 0,3934±0,0126 у.е.

Полученные данные свидетельствуют об интенсивных процессах роста элементарных ячеек и кристаллитов костного биоминерала у контрольных животных неполовозрелого возраста.

Аналогичные в целом изменения кристаллографических параметров были зарегистрированы и для биоминерала зубов, в отличие от костного, представленного преимущественно не гидроксил-, а фторапатитом. Размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* в ходе наблюдения с 7 по 180 день увеличивались с 9,347±0,003 10<sup>-10</sup> М до 9,361±0,003 10<sup>-10</sup> М, вдоль оси *c* – с 6,809±0,002 10<sup>-10</sup> М до 6,819±0,004 10<sup>-10</sup> М, а соотношение *c/a* колебалось в пределах 72,84–72,90 (М<sup>-2</sup>). Размеры блоков когерентного рассеивания с 7 по 180 день наблюдения увеличивались с 26,21±0,29 нМ до 28,77±0,30 нМ, а коэффициент микротекстурирования – с 0,4823±0,0050 у.е. до 0,5536±0,0091 у.е.

Полученные результаты свидетельствуют, что биоминерал зубов, представленных большей частью дентином, более кристаллизован, чем костный гидроксилapatит, и имеет более упорядоченную структуру. В нем также продолжают процессы роста элементарных ячеек и дальнейшего упорядочивания кристаллической решетки, о чем свидетельствует увеличение коэффициента микротекстурирования.

У репродуктивных ложнотимэктомированных крыс размеры элементарных ячеек костного гидроксилapatита вдоль оси *a* в период с 7 по 180 дни наблюдения колебались в пределах 9,377±9,381 10<sup>-10</sup> М, а размеры вдоль оси *c* увеличивались с 6,840±0,002 10<sup>-10</sup> М до 6,850±0,00110<sup>-10</sup> М. Соотношение *c/a* в ходе наблюдения увеличивалось с 72,93±0,03 у.е. до 73,03±0,03%. Размеры блоков когерентного рассеивания увеличивались с 39,77±0,58 нМ до 43,99±0,64 нМ, а коэффициент микротекстурирования – с 0,3878±0,0053 у.е. до 0,4228±0,0024 у.е.

Это свидетельствует о продолжающихся процессах формирования и роста элементарных ячеек костного гидроксилapatита, а также дальнейшего упорядочивания его кристаллической решетки, хотя и не таких интенсивных, как у неполовозрелых животных.

Динамика ультраструктуры биоминерала зубов половозрелых крыс имела такую же направленность. Размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* с 7 по 180 день наблюдения увеличивались с 9,362±0,003 10<sup>-10</sup> М до 9,371±0,004 10<sup>-10</sup> М, вдоль оси *c* – с 6,820±0,004 10<sup>-10</sup> М до 6,828±0,005 10<sup>-10</sup> М, а соотношение размеров *c/a* колебалось в пределах 72,84–72,86 у.е. Блоки когерентного рассеивания продолжали увеличиваться в ходе наблюдения с 28,71±0,40 нМ до 32,64±0,42 нМ, а коэффициент микротекстурирования – с 0,5489±0,0115 у.е. до 0,5699±0,0041 у.е.

У ложнотимэктомированных крыс старческого возраста размеры элементарных ячеек костного биоминерала продолжали увеличиваться. За период с 7 по 180 дни наблюдения размеры элементарных ячеек гидроксилapatита вдоль оси *a* увеличивались с 6,390±0,002 10<sup>-10</sup> М до 9,404±0,001 10<sup>-10</sup> М, а вдоль оси *c* – с 6,865±0,001 10<sup>-10</sup> М до 6,877±0,001 10<sup>-10</sup> М. Соотношение размеров *c/a* в период наблюдения колебалось в пределах 73,10±73,13 у.е.

Размеры блоков когерентного рассеивания про-

должали увеличиваться – с 48,99±0,36 нМ до 51,96±0,70 нМ. В то же время, коэффициент микротекстурирования в период с 7 по 180 дни уменьшался с 0,4006±0,0092 у.е. до 0,3439±0,0035 у.е.

Это свидетельствует об уменьшении с возрастом общей обменной поверхности костного биоминерала и дестабилизации его кристаллической решетки, что является проявлением сенильного остеопороза.

В минерализованных тканях зубов размеры элементарных ячеек биоминерала вдоль оси *a* за период наблюдения увеличивались с 9,375±0,003 10<sup>-10</sup> М до 9,383±0,004 10<sup>-10</sup> М, а размеры вдоль оси *c* – с 6,829±0,004 10<sup>-10</sup> М до 6,837±0,003 10<sup>-10</sup> М. Поскольку размеры элементарных ячеек увеличивались пропорционально, соотношение их размеров *c/a* в ходе наблюдения практически не изменялось.

Размеры кристаллитов фторапатита в ходе наблюдения также увеличивались с 34,01±0,43 нМ до 37,50±0,35 нМ, а коэффициент микротекстурирования уменьшался с 0,5614±0,0035 у.е. до 0,4930±0,0036.

Это также свидетельствует об уменьшении с возрастом общей обменной поверхности биоминерала зубов и дестабилизации его кристаллической решетки, что, вероятно, является проявлением генерализованного пародонтоза.

У тимэктомированных неполовозрелых крыс изменения ультраструктуры костного минерала были выявлены с 15 дня после операции. Размеры кристаллитов были больше аналогичных показателей контрольной группы с 15 по 180 дни эксперимента соответственно на 4,57%, 5,25%, 5,52% и 5,62%. Коэффициент микротекстурирования, напротив, в те же сроки был меньше контрольных значений на 10,73%, 12,16%, 12,52% и 11,17%. Такие изменения свидетельствуют об уменьшении общей обменной поверхности костного биоминерала и дестабилизации его кристаллической решетки.

Значительно позже, к 90 и 180 дням было выявлено увеличение размеров элементарных ячеек костного гидроксилapatита вдоль оси *c* – они были больше контрольных на 0,18% и 0,17%.

Изменения ультраструктуры биоминерала зубов в условиях тимэктомии у неполовозрелых крыс возникли несколько позже, чем в костном веществе – с 30 дня после операции (см. табл. Б.6). Размеры блоков когерентного рассеивания были больше аналогичных контрольных значений с 30 по 180 дни эксперимента соответственно на 3,64%, 6,22% и 4,17%, а коэффициент микротекстурирования в тот же период – меньше на 3,28%, 4,28% (*p*>0,05) и 8,85%.

Нарушение процессов нуклеации и роста элементарных ячеек биоминерала зубов так же, как и в костном веществе, регистрировалось с 90 дня эксперимента, но было выражено сильнее. Помимо увеличения размеров элементарных ячеек вдоль оси *c* к 90 и 180 дням (на 0,15% и 0,13% (*p*>0,05)), регистрировалось и увеличение размеров вдоль оси *a* – соответственно на 0,11% и 0,12%.

Это свидетельствует о более грубых и необратимых нарушениях в ультраструктуре фторапатита зубов.

В условиях тимэктомии у репродуктивных животных ультраструктура костного биоминерала начинала изменяться с 30 дня эксперимента. Коэффициент микротекстурирования был меньше, чем в контрольной группе, с 30 по 180 дни наблюдения

соответственно на 6,14%, 4,08% ( $p > 0,05$ ) и 3,39%. Параметры элементарных ячеек костного биоминерала увеличивались и были больше контрольных значений к 90 и 180 дням эксперимента: на 0,10% и 0,15% для размеров вдоль оси *a* и на 0,17% и 0,19% для размера вдоль оси *c*. Размеры кристаллитов также были больше контрольных с 90 по 180 дни эксперимента на 4,47% и 3,22% ( $p > 0,05$ ).

В условиях тимэктомии изменения ультраструктуры фтороапатита зубов нижней челюсти регистрировались с 90 дня эксперимента. Размеры элементарных ячеек биоминерала зубов вдоль оси *a* к 90 и 180 дням эксперимента были больше контрольных показателей соответственно на 0,12% и 0,14%, а размеры вдоль оси *c* – на 0,17% и 0,16% ( $p > 0,05$ ). При этом размеры кристаллитов были также больше контрольных к 90 и 180 дням на 4,78% и 4,51%, а коэффициент микротекстурирования – меньше на 5,30% и 3,81%.

Проведение тимэктомии животным старческого возраста сопровождалось изменениями в ультраструктуре костного биоминерала начиная с 15 дня после операции. Размеры элементарных ячеек остеоапатита вдоль оси *c* были больше контрольных значений с 15 по 180 дни эксперимента соответственно на 0,13%, 0,19%, 0,27% и 0,18%, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* – к 30 и 90 дням на 0,12% и 0,13%. При этом соотношение размеров *c/a* в ходе наблюдения было несколько больше контрольного, но отличия границ доверительного интервала не достигали.

Коэффициент микротекстурирования был меньше, чем в контрольной группе, с 30 по 180 дни эксперимента соответственно на 9,33%, 8,25% и 7,24%, а размеры кристаллитов преобладали над показателями контрольной группы лишь к 90 дню – на 2,38%.

В условиях тимэктомии коэффициент микротекстурирования биоминерала зубов был меньше аналогичных показателей контрольной группы с 15 по 90 дни наблюдения соответственно на 3,50%, 4,05% и 3,10%. Размеры элементарных ячеек фтороапатита вдоль оси *a* были больше контрольных значений с 30 по 180 день эксперимента соответственно на 0,14%, 0,15% и 0,15%, а величина кристаллитов – к 30 и 90 дням на 3,54% и 3,41%. Остальные исследуемые параметры от контрольных достоверно не отличались.

**Заключение.** Таким образом, костный биоминерал нижней челюсти у тимэктомированных половозрелых животных характеризуется уменьшением общей обменной поверхности и дестабилизацией кристаллической решетки с 15 дня эксперимента. Процессы нуклеации и роста элементарных ячеек костного биоминерала нарушаются несколько позже – с 90 дня, о чем свидетельствует увеличение их размера вдоль оси *c*. У половозрелых крыс тимэктомия сопровождается дестабилизацией кристаллической решетки биоминерала как кости, так и минерализованных тканей зубов, данные изменения для остеоапатита регистрируются с 30 дня эксперимента, а для фтороапатита минерализованных тканей зубов – с 90 дня. У тимэктомированных крыс старческого возраста ультраструктура костного биоминерала характеризовалась дестабилизацией и разрушением элементарных ячеек с 15 дня эксперимента и дестабилизацией ее кристаллической решетки с 30 дня. Измене-

ния биоминерала зубов в условиях тимэктомии у крыс старческого возраста в целом сходны с изменениями ультраструктуры костного биоминерала, однако, в отличие от него, дестабилизация кристаллической решетки наступала раньше (с 15 дня), а дестабилизация и разрушение элементарных ячеек – позже (с 30 дня).

#### Перспективы дальнейших исследований.

Для выяснения механизмов дестабилизации ультраструктуры биоминералов нижней челюсти, в дальнейшем будет проведено исследование их химического состава.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Азаров Л.В. Метод порошка в рентгенографии / Л.В.Азаров, М.И.Бургер - М.: Изд.-во иностранной литературы, 1961. - 363 с.
2. Декларацийний патент на винахід 64156 А Україна, А61В17/00. Пінцет для тимектомії у дрібних лабораторних тварин. Декларацийний патент на винахід 64156 А Україна, А61В17/00 / Ковешніков В.Г., Кащенко С.А., Болгова Е.С., Овчаренко В.В.; Заявл. 18.02.03; Опубл. 16.02.04.; Бюл. № 2.
3. Кащенко С.А. Особенности остеогенеза при действии иммуностимуляторов / С.А. Кащенко // Проблемы остеологии. - 2002. - Т. 5, №1. - С. 59-61.
4. Киреева И.С. Особенности влияния загрязнения окружающей среды на здоровье населения промышленных городов Донецкого региона / И.С. Киреева, И.Г. Чудова, В.П. Ермоленко // Довкілля та здоров'я. - 1997. - №3. - С. 33-35.
5. Кресюн В.И. Клинические аспекты иммунофармакологии / В.И. Кресюн, Ю.И. Бажора, С.С. Рыбалова. - Одесса, 1993. - С. 163-165.
6. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - Киев: Морисон, 2000. - 320 с.
7. Миркин Л.И. Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство / Миркин Л.И. - М.: Наука, 1981. - 496 с.
8. Михеев В.И. Рентгенометрический определитель минералов / Михеев В.И. - М.: Гостеолиздат., 1957. - 868 с.
9. Подрушняк Е.П. Ультраструктура минерального компонента и прочность костной ткани позвоночков у людей различного возраста / Е.П.Подрушняк, А.И. Новохацкий // Ортопед. травматол. - 1983. - N8. - С.15-18.
10. Фролов В.М. Клінічна імунологія синдрому підвищеної стомленості у мешканців регіону Донбасу: показними клітинної ланки імунітету / В.М. Фролов, Г.М. Драннік // Український медичний альманах. - 2003. - №3. - С. 169-172.
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.

Надійшла 12.09.2011 р.

Рецензент: проф. В.Г.Ковешніков