

ОСОБЛИВОСТІ УЛЬТРАСТРУКТУРИ КІСТКОВОГО БІОМІНЕРАЛУ У БІЛИХ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ ТА ОБҐРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ВИЯВЛЕНИХ ЗМІН
ДЗ “Луганський державний медичний університет” (м. Луганськ)

Робота є фрагментом НДР ЛДМУ «Вплив хронічної гіпертермії і фізичного навантаження на морфогенез органів імунної, ендокринної і кісткової систем організму» (державний реєстраційний номер 0107U004485).

Вступ. Вплив на організм несприятливих чинників виробничого середовища є актуальним питанням сучасної медицини, особливо в такому індустріально розвиненому регіоні, як Донбас. Підвищена температура навколишнього середовища і важка фізична праця – невід’ємна частина трудової діяльності робочих глибоких вугільних шахт, металургійних комбінатів, деяких сільськогосподарських підприємств, моряків [1, 2]. Проте хронічна гіпертермія (ХГ) загального або місцевого характеру застосовується у лікуванні ряду хронічних, запальних, комплексному лікуванні онкологічних захворювань [8]. Немає єдиної точки зору щодо режиму і тривалості температурної дії, що викликає необоротні патологічні зміни в органах і тканинах, які є можливості по запобіганню цим змінам, що і обумовлює актуальність нашій роботи.

Кісткова система постійно взаємодіє з внутрішнім середовищем організму. Проведені нами дослідження показали, що після впливу різних режимів ХГ спостерігається уповільнення росту кісток, зниження їх міцності і дисбаланс хімічного складу [3, 4, 11]. Для уточнення механізмів виявлених порушень і обґрунтування можливості їх корекції слід прослідити зміни, що виникають в ультраструктурі кісткового мінералу.

Метою дослідження стало вивчення в експерименті ультраструктури кісткового мінералу у білих статевозрілих щурів після впливу різних режимів ХГ, а також обґрунтування можливості корекції виявлених змін.

Об’єкт і методи дослідження. Дослідження проведене на 270 білих щурах-самцях репродуктивного віку початковою масою 154,65±5,61 г. Утримання тварин та маніпуляції, які з ними проводили, відповідали Закону України № 3447-IV від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986) [12]. Тварини були розподілені на 9 груп по 30 тварин в кожній. 1 (К) – група інтактних тварин; 2-8 – групи тварин, які впродовж 60 днів щодня по 5 годин знаходилися під впливом підвищеної температури в спеціальній термічній камері. 2 (Е) група знаходилася під впливом температури 44-45°C

(режим екстремальної ХГ). 3 (С) група – під впливом температури 42-43°C (режим ХГ середнього ступеня). 4 (П) група – під впливом температури 39-41°C (режим помірної ХГ). 5-6 групи тварин піддавалися поєднаному впливу екстремального та середнього режимів ХГ на тлі динамічного фізичного навантаження (плавання в басейні 15-20 хвилин); відповідно Е+Н і С+Н. 7-8 групі на тлі дії екстремального та середнього режимів ХГ вводили передбачуваний коректор – синтетичний препарат метаболічного ряду інозин; відповідно Е+І і С+І. Інозин застосовувався у дозі 20 мг/кг маси тіла внутрішньошлунково 1 раз на добу за 1 годину до перебування тварин в умовах гіпертермії (згідно рекомендаціям Ю.Р. Риболовлева та Р.С. Риболовлева) [10]; 9 (І) групі тварин вводився інозин без подальшого поміщення в умови гіпертермії. Тварин виводили з експерименту на 1, 7, 15, 30 і 60 добу після закінчення сеансів гіпертермії методом декапітації під ефірним наркозом.

Для дослідження ультраструктури мінерального компонента кістки використовували метод рентгеноструктурного аналізу. Кістковий порошок великогомілкової кістки досліджували на апараті ДРОН-2,0 з гоніометричною приставкою ГУР-5. Використовували Ка випромінювання міді з довжиною хвилі 0,1542 нм; напруга і сила анодного струму складали відповідно 30 кВ і 20 мА. На отриманих дифрактограмах досліджували найбільш виражені дифракційні піки, по кутовому положенню яких розраховували міжплощинні відстані та параметри елементарної комірки кісткового гідроксилапатиту. Крім цього визначали розміри блоків когерентного розсіювання по рівнянню Селякова-Шерера та розраховували коефіцієнт мікротекстурування по методу співвідношення рефлексів і визначали параметри кристалічної решітки гідроксилапатиту з урахуванням гексагональної сингонії кристалів [6, 9]. Отримані дані обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакету програм “Statistica” 5.11 for Windows.

Результати досліджень та їх обговорення. В інтактних тварин у ході спостереження розміри елементарних комірок уздовж осей а і с збільшувалися з 9,410±0,005 М-10 до 9,422±0,006 М-10 і з 6,872±0,003 М-10 до 6,884±0,001 М-10 (**табл.**). Співвідношення параметрів с/а при цьому залишалось практично незмінним і коливалось в межах 73,02-73,064102 у.о., що свідчить про рівновагу між процесами резорбції і кристалізації кісткового мінералу. Розміри блоків когерентного розсіювання при цьому зростали з 41,91±0,50 нм до 43,79±0,86

МОРФОЛОГІЯ

нМ, а коефіцієнт мікротекстурування, що свідчить про однорідність орієнтації кристалів в кристалічній решітці, також збільшувався – з $0,4721 \pm 0,0165$ до $0,4851 \pm 0,0092$. Отримані дані про ультраструктуру кісткового мінералу у білих щурів репродуктивного віку співпадають з описаними у літературі [5].

Вплив умов ХГ протягом 60 діб супроводжувався дестабілізацією кристалографічних параметрів кісткового біомінералу, збільшенням ступеня аморфності й зменшенням його загальної обмінної поверхні. Такі відхилення свідчать про дестабілізацію елементарних комірок і їх руйнування. Слід

Таблиця

Кристалографічні параметри кісткового мінералу, М±m

Група	Термін	Розмір елемент. комірки уздовж осі а, 10^{-10} М	Розмір елемент. комірки уздовж осі с, 10^{-10} М	Співвідношення с/а, 10^2	Розмір блоків когер. розсіювання, нМ	Коефіцієнт мікротекстурування, у.о.
К	1	9,410±0,005	6,872±0,003	73,03±0,04	41,91±0,50	0,4721±0,0165
	7	9,414±0,004	6,874±0,004	73,02±0,03	42,21±0,71	0,4764±0,0179
	15	9,416±0,005	6,875±0,004	73,02±0,05	43,18±0,65	0,4824±0,0147
	30	9,420±0,005	6,881±0,002	73,05±0,02	43,37±0,91	0,4852±0,0071
	60	9,422±0,006	6,883±0,001	73,06±0,04	43,79±0,86	0,4851±0,0092
Е	1	9,434±0,003*	6,902±0,003*	73,15±0,04	49,60±0,69*	0,4187±0,0148*
	7	9,435±0,004*	6,902±0,002*	73,14±0,04	49,24±0,82*	0,4124±0,0163*
	15	9,428±0,004	6,896±0,006*	73,14±0,06	48,92±1,03*	0,4229±0,0269
	30	9,419±0,003	6,898±0,001*	73,24±0,02	49,60±0,69*	0,4173±0,0201*
	60	9,436±0,004	6,890±0,002	73,01±0,01	47,88±1,21*	0,4536±0,0202
С	1	9,432±0,004*	6,898±0,003*	73,13±0,05	48,92±1,03*	0,4095±0,0171*
	7	9,435±0,004*	6,891±0,006*	73,04±0,05	47,93±1,39*	0,4329±0,0112
	15	9,430±0,004	6,890±0,005*	73,07±0,04	46,94±1,39*	0,4433±0,0259
	30	9,421±0,003	6,892±0,003*	73,15±0,05	47,06±1,26*	0,4612±0,0099
	60	9,432±0,003	6,888±0,002	73,03±0,04	47,40±1,36*	0,4696±0,0203
П	1	9,418±0,003	6,880±0,004	73,04±0,04	44,51±0,62*	0,4381±0,0081
	7	9,421±0,004	6,877±0,003	73,00±0,03	43,95±0,88	0,4522±0,0176
	15	9,419±0,005	6,878±0,002	73,02±0,02	43,90±0,58	0,4674±0,0181
	30	9,419±0,004	6,884±0,003	73,08±0,03	45,56±1,27	0,4687±0,0132
	60	9,422±0,006	6,885±0,002	73,08±0,04	44,37±0,75	0,4821±0,0095
Е+Н	1	9,438±0,006*	6,897±0,004*	73,09±0,04	53,15±2,00*	0,5118±0,0103
	7	9,436±0,005*	6,896±0,004*	73,09±0,04	51,76±1,57*	0,5030±0,0126
	15	9,435±0,005*	6,892±0,004	73,04±0,03	51,21±0,99*	0,4289±0,0126*
	30	9,436±0,002*	6,893±0,004*	73,05±0,04	50,99±0,87*	0,4205±0,0121*
	60	9,434±0,003*	6,892±0,003	73,05±0,03	50,42±1,01*	0,4291±0,0153
С+Н	1	9,438±0,002*	6,902±0,003*	73,13±0,04	50,03±1,00*	0,3894±0,0177*
	7	9,440±0,004*	6,894±0,004*	73,03±0,04	49,34±0,82*	0,4085±0,0173*
	15	9,433±0,004*	6,894±0,004*	73,09±0,02	48,59±1,19*	0,4354±0,0228
	30	9,425±0,003	6,896±0,003*	73,17±0,04*	47,84±1,05*	0,4525±0,0111*
	60	9,434±0,003	6,890±0,002	73,03±0,04	47,71±1,24*	0,4646±0,0232
Е+І	1	9,427±0,003*	6,888±0,002*	73,07±0,04	48,86±0,68*	0,4408±0,0048
	7	9,431±0,004*	6,898±0,003*	73,15±0,04*	48,10±0,39*	0,4461±0,0203
	15	9,427±0,003	6,884±0,008	73,03±0,08	47,85±1,05*	0,4352±0,0233
	30	9,419±0,003	6,894±0,003*	73,20±0,03*	47,93±0,43*	0,4680±0,0024
	60	9,429±0,004	6,885±0,002	73,02±0,02	46,07±0,52	0,5041±0,0200
С+І	1	9,427±0,006*	6,893±0,005*	73,12±0,08	47,59±1,38*	0,4248±0,0018
	7	9,431±0,005*	6,888±0,005*	73,04±0,06	46,18±1,17*	0,4520±0,0051
	15	9,421±0,004	6,878±0,004	73,00±0,04	45,68±1,63	0,4641±0,0074
	30	9,415±0,005	6,887±0,004	73,15±0,05	46,69±1,23	0,4720±0,0136
	60	9,429±0,004	6,885±0,002	73,02±0,03	45,45±1,42	0,4722±0,0153
І	1	9,410±0,005	6,874±0,003	73,06±0,04	42,79±0,84	0,4957±0,0198
	7	9,420±0,006	6,878±0,006	73,01±0,04	44,63±1,25	0,4828±0,0189
	15	9,412±0,005	6,871±0,002	73,01±0,04	44,80±1,30	0,5271±0,0433
	30	9,413±0,007	6,877±0,003	73,06±0,05	44,05±0,62	0,4983±0,0129
	60	9,430±0,004	6,884±0,001	73,00±0,03	44,49±0,58	0,4692±0,0097

Примітка: * – позначає достовірне відхилення від групи К ($p < 0,05$)

зазначити, що параметри елементарної комірки гідроксилапатита у тварин, що піддалися впливу ХГ часто статистично достовірно відрізнялися від контрольних, незважаючи на те, що амплітуда відхилень складала, як правило, лише 0,3-0,4%. Це пояснюється тим, що саме параметри елементарної комірки зі всієї сукупності досліджуваних кристалографічних показників є найбільш стабільними і їх величина визначає тип мінералу [7]. Статистична достовірність відмінностей виявлялася ж за рахунок достатньої високої точності вимірювань і кількості спостережень.

Після впливу екстремальної ХГ розміри елементарних комірок уздовж осей а і с були збільшені на 0,26% і 0,42%, а співвідношення параметрів с/а – на 0,16% ($p > 0,05$). Коефіцієнт мікротекстурування був меншим за контрольні дані на 11,39%, кристаліти збільшені на 18,34%. Після впливу ХГ середнього ступеня розміри комірок уздовж осей а і с перевищували показники групи К на 0,23% і 0,37%, а співвідношення параметрів с/а – на 0,13% ($p > 0,05$). Коефіцієнт мікротекстурування був менший за контроль на 13,25%, а розміри кристалітів зросли на 16,71%. Дані відхилення схожі по спрямованості з умовами Е, але в цілому менші за амплітудою.

Нарешті, 60-денний вплив умов П також супроводжувалося явищами дестабілізації кісткового мінералу, але вираженість їх була значно меншою. Слід відзначити лише достовірне збільшення кристалітів на 6,19% та зменшення коефіцієнту мікротекстурування на 7,21%.

Поєднання ХГ з фізичним навантаженням супроводжувалося посиленням негативних змін в ультраструктурі кісткового мінералу. Комбінація з екстремальним режимом призводила до збільшення розмірів елементарних комірок уздовж осей а і с на 0,29% і 0,37%. Розміри кристалітів перевищували контрольні значення на 26,81%, що більше, ніж в групі з ізольованим впливом. Коефіцієнт мікротекстурування при цьому був збільшений на 8,41% ($p > 0,05$). Оскільки раніше нами було показано зниження міцності кісток в умовах експерименту, це можна пояснити тим, що з метою підтримки міцності кристали кісткового мінералу шикуються вздовж ліній силового навантаження. За умов комбінації гіпертермії середнього ступеня та фізичного навантаження розміри елементарних комірок уздовж осей а і с перевищували показники контрольної групи на 0,30% і 0,43%, коефіцієнт мікротекстурування був зменшений на 17,51%, розміри кристалітів збільшені на 19,36%.

Застосування під час перебування в умовах ХГ інозину в деякій мірі згладжувало негативний вплив умов експерименту. Після впливу умов Е+І розміри елементарних комірок уздовж осей а і с перевищували показники групи К на 0,18% і 0,23%, розміри кристалітів були збільшені на 16,56%, а коефіцієнт мікротекстурування зменшений на 6,62% ($p > 0,05$), що значно ближче до К, ніж в групі з ізольованим впливом. При комбінації С+І на 1 добу реадaptaції розміри елементарних комірок уздовж осей а

і с перевищували показники групи порівняння на 0,18% і 0,30%, розміри кристалітів були збільшені на 13,55%, а коефіцієнт мікротекстурування зменшений на 10,03% ($p > 0,05$).

Застосування інозину у тварин без перебування в умовах ХГ не супроводжувалося змінами ультраструктури кісткового біомінералу.

На 60 добу реадaptaції в групах з ізольованим впливом ХГ спостерігалось відновлення розмірів елементарних комірок, розміри кристалітів були збільшені на 8,23-9,33%, коефіцієнт мікротекстурування достовірно не відрізнявся від К, що свідчить про відновлення однорідності орієнтації кристалів в кристалічній решітці.

Процес реадaptaції у групах із впливом двох чинників характеризувався стабілізацією елементарних комірок і кристалітів, проте підвищений ступінь аморфності й зниження впорядкованості кристалічної решітки зберігалось і було особливо виражене у групі Е+Н, де ступінь впорядкованості кристалічної решітки перевищував дані К 15,14%.

Реадaptaційний період у групах із застосуванням інозину під час експериментального впливу характеризувався відновленням всіх показників ультраструктури кісткового мінералу: при комбінації з екстремальним режимом – на 60, а з середнім – на 15 добу.

Висновки. Вплив умов ХГ протягом 60 днів супроводжується дестабілізацією елементарних комірок і кристалітів кісткового гідроксилапатита, збільшенням ступеня його аморфності, а також зниженням впорядкованості кристалічної решітки. Вираженість змін залежала від режиму: максимальні відхилення реєструвалися при Е, мінімальні – при П ХГ.

У порівнянні з режимами ізольованої гіпертермії, поєднання її з фізичним навантаженням супроводжується схожими за спрямованістю, але більшими за амплітудою відхиленнями.

Внутрішньошлункове застосування інозину в дозуванні 20 мг/кг щодоби згладжує негативний вплив умов експерименту на ультраструктуру кісткового мінералу, ефективність залежала від режиму ХГ: амплітуда відхилень від К в групі С+І була меншою, ніж в групі Е+І.

Після закінчення реадaptaційного періоду у групах з ізольованим впливом ХГ і з поєднанням двох чинників відбулося відновлення розмірів елементарних комірок, однорідності орієнтації кристалів в кристалічній решітці, проте кістковий мінерал все ще характеризувався підвищеним ступенем аморфності і зниженням загальної обмінної поверхні. Реадaptaційний період у групах із застосуванням коректора характеризувався більш швидким і повним відновленням всіх показників ультраструктури кісткового мінералу.

Перспективи подальших досліджень. Для підтвердження отриманих результатів в подальшому буде проведено дослідження хімічного складу кісток в умовах нашого експерименту.

Список літератури

1. Галимуллин Ф.З. Профессиональные заболевания горнорабочих в угольной промышленности / Ф.З. Галимуллин, С.И. Квашнина // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2004. – № 4. – С. 21-23.
2. Кайсаров Г.А. Дегенеративно-дистрофические заболевания опорно-двигательного аппарата у лиц, работающих на металлургическом комбинате / Г.А. Кайсаров, В.В. Багирова // Терапевтический архив. – 2004. – № 2. – С. 57-63.
3. Лузин В.И. Биомеханические параметры костей белых половозрелых крыс после воздействия различных режимов хронической гипертермии в комбинации с физической нагрузкой и возможным корректором инозином / В.И. Лузин, С.М. Смоленчук // Український журнал екстремальної медицини імені Г.О. Можаяєва. – 2009. – Т. 10, № 3. – С. 87-91.
4. 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 // Україн. морф. альманах. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 52-56.
5. Лузин В.И. Ультраструктура минерала, формирующегося при имплантации в большеберцовую кость керамического гидроксилата и воздействию объемно-комбинационных импульсных электромагнитных полей / В.И. Лузин, С.Л. Кучеренко // Український медичний альманах. – 2009. – Т. 12, № 3. – С. 100-103.
6. Миркин Л.И. Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство / Л.И. Миркин. – М.: Наука, 1981. – 496 с.
7. Михеев В.И. Рентгенометрический определитель минералов / В.И. Михеев. – М.: Госгеолтехиздат, 1957. – 868 с.
8. Осинский С.П. Гипертермия в комплексном лечении онкологических больных / С.П. Осинский // Doctor. – 2003. – №4. – С. 35-37.
9. Пономарев В.В. Рентгеноструктурные методы исследования в инженерной геологии. – М.: Недра, 1981. – 194 с.
10. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6, – С. 1513-1516.
11. Смоленчук С.М. Особенности макроэлементного состава костей скелета белых крыс, подвергшихся воздействию различных режимов хронической гипертермии в сочетании с физической нагрузкой и возможным корректором инозином / С.М. Смоленчук // Україн. мед. альманах. – 2009. – Т. 12, № 1. – С. 164-167.
12. 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.

УДК 611.7:612.57:616-092.9

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КОСТНОГО БИОМИНЕРАЛА У БЕЛЫХ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРТЕРМИИ И ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ВЫЯВЛЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ

Лузин В.И., Грищук М.Г., Смоленчук С.М.

Резюме. В эксперименте на 270 белых половозрелых крысах установлено, что воздействие ХГ среднего и экстремального режимов сопровождается дестабилизацией кристаллографических параметров и увеличением степени аморфности костного минерала. Сочетание ХГ с физической нагрузкой усугубляет выявленные отклонения. Применение инозина в качестве корректора в дозировке 20 мг/кг ежесуточно сглаживает негативное влияние условий ХГ на ультраструктуру костного минерала.

Ключевые слова: ультраструктура, костный минерал, хроническая гипертермия, крысы.

УДК 611.7:612.57:616-092.9

ОСОБЛИВОСТІ УЛЬТРАСТРУКТУРИ КІСТКОВОГО БІОМІНЕРАЛУ У БІЛИХ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ ТА ОБГРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ВИЯВЛЕНИХ ЗМІН

Лузин В.І., Грищук М.Г., Смоленчук С.М.

Резюме. В експерименті на 270 білих статевозрілих щурах встановлено, що дія ХГ середнього і екстремального режимів супроводжується дестабілізацією кристаллографічних параметрів та збільшенням ступеню аморфності кісткового мінералу. Поєднання ХГ з фізичним навантаженням погіршує виявлені відхилення. Застосування інозину як коректора в дозуванні 20 мг/кг щодоби згладжує негативний вплив умов ХГ на ультраструктуру кісткового мінералу.

Ключові слова: ультраструктура, кістковий мінерал, хронічна гіпертермія, щури.

UDC 611.7:612.57:616-092.9

Features Of Bone Biomineral Ultrastructure In White Adult Rats Under The Impact Of Chronic Hyperthermia And Possibility Of Correction

Luzin V.I., M.G. Gryshchuk Smolenchuk S.M.

Summary. In an experiment on 270 white adult rat males it is set that influence of chronic hyperthermia of the middle and extreme modes brings to destabilization of crystallography parameters and increases of amorphous degree of bone mineral. Combined influence of chronic hyperthermia and physical activity worsens studied indicators. Injection of inosine in a dose 20 mg/ kg per day decreases negative influence of chronic hyperthermia on the bone mineral ultrastructure.

Key words: ultrastructure, bone mineral, chronic hyperthermia, rats.

Стаття надійшла 2.08.2011 р.