

УДК 611.71/.72: 549.02: 539.26

© С.А. Кутя, 2010.

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИНЕРАЛЬНОГО КОМПОНЕНТА КОСТЕЙ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ СИСТЕМАТИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК, ПО ДАННЫМ РЕНТГЕНСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА

С.А. Кутя

Кафедра нормальной анатомии (зав. кафедрой – проф. В.С. Пикалюк),  
Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет  
им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь

### AGE-RELATED FEATURES OF BONE MINERAL OF RATS EXPOSED REGULARLY TO HYPERGRAVITY ACCORDING TO DATA OF X-RAY DIFFRACTION ANALYSIS

S. A. Kutya

#### SUMMARY

Structure phase content of bone mineral of male rats exposed to hypergravity (daily, 9g, 10 min, 60 days) was investigated experimentally. Hypergravity did not affect symmetry of unit cells of hydroxyapatite, increased crystal size of bone mineral in two- and six-month-old rats. Contrary alterations found in twelve-month-old rats. Gravitational overloads increased content of crystalline phase in two-month-old rats, amorphous phase in six-month-old rats and decreased portion of calcite.

### ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ МІНЕРАЛЬНОГО КОМПОНЕНТА КІСТОК ЩУРІВ, ЩО ПІДДАВАЛИСЯ СИСТЕМАТИЧНОМУ ВПЛИВУ ГРАВІТАЦІЙНИХ ПЕРЕВАНТАЖЕНЬ ЗА ДАНИМИ РЕНТГЕНСТРУКТУРНОГО АНАЛІЗУ

С. А. Кутя

#### РЕЗЮМЕ

В експерименті на щурах самцях трьох вікових груп була досліджена будова та фазовий склад кісткового мінералу в умовах щоденної дії гравітаційних перевантажень (9g, 10 хвилини, 60 днів). Встановлено, що у двох- та шестимісячних щурів гіпергравітація не впливає на ступінь симетрії елементарних комірок, але приводить до збільшення розмірів кристалітів. У дванадцятимісячних щурів виявлені зміни протилежного напрямку. Під дією гравітаційних перевантажень у двохмісячних тварин відзначено збільшення вмісту кристалічної фази, у шестимісячних – аморфної, у дванадцятимісячних – зменшення частки кальциту.

**Ключевые слова:** костный минерал, гипергравитация, рентгенструктурный анализ.

Нашими предыдущими исследованиями были установлены особенности ультраструктуры и фазового состава минерального компонента костей, закономерности изменения процессов минерализации их органического матрикса под влиянием десяти- и тридцатикратных гравитационных перегрузок на организм крыс разного возраста [1, 2].

Целью настоящего исследования явилось изучение ультраструктуры костного минерала и фазовых компонентов минерального матрикса костей с увеличением количества сеансов гипергравитации до шестидесяти. Работа выполнена в рамках научно-исследовательской темы кафедры нормальной анатомии Крымского государственного медицинского университета «Возрастные морфофункциональные

особенности отдельных органов и систем организма под влиянием гравитационных перегрузок и различных методов их коррекции» (государственный регистрационный номер 0104U002080).

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент был проведен на 36 белых крысах линии Вистар в возрасте 2, 6 и 12 месяцев с исходной массой 120-130 г, 200-230 г и 260-280 г соответственно, которые были разделены на две серии – контрольную и экспериментальную. Гравитационные перегрузки моделировали путем вращения животных на центрифуге Ц-2/500 (рабочий диапазон от 1 до 50 g, радиус плеча 50 см, градиент нарастания - 1,6 g/c, градиент спада - 0,6-0,8 g/c). Животных подвергали гипергравитационному воздействию величиной

9g каждый день в виде следующих друг за другом трех “площадок” продолжительностью по 3 минуты с тридцатисекундными перерывами. Контрольные крысы находились во время сеанса гипергравитации на верхней платформе центрифуги.

Эксперимент на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. По окончании сроков эксперимента (через 60 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом.

Рентгеноструктурное исследование костной золы, полученной из проксимального эпифиза плечевой кости, проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5, использовали Кб 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  $2\epsilon$  до  $37\epsilon$  со скоростью записи 1 $\epsilon$  в минуту.

На полученных дифрактограммах исследовали наиболее выраженные дифракционные пики, по угловому положению которых рассчитывали межплоскостные расстояния и параметры элементарной ячей-

ки костного гидроксиапатита [3, 4]. Кроме этого определяли размеры блоков когерентного рассеивания по уравнению Селякова-Шерера и рассчитывали коэффициент микротекстурирования по методу соотношения рефлексов [5, 6].

Для определения кристаллической фазы в минеральном компоненте кости использовали метод внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта избран рутил. Аналитическими рефлексами послужили слившиеся в единый дифракционный максимум рефлексы 211, 112, 300, 202 гидроксиапатита кости. Интенсивность фона измеряли у основания рефлексов в пределах  $0,5^\circ - 1^\circ$  [7].

Данные, полученные в результате исследования, обрабатывались с использованием методов вариационной статистики. Достоверной считали вероятность ошибки менее 5% ( $p < 0,05$ ).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании фазового состава костного минерала двухмесячных крыс нами было обнаружено возрастание в сравнении с контрольными результатами доли гидроксиапатита на 4,50% ( $p < 0,05$ ), сочетавшееся с уменьшением содержания аморфного фосфата кальция на 11,53% ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

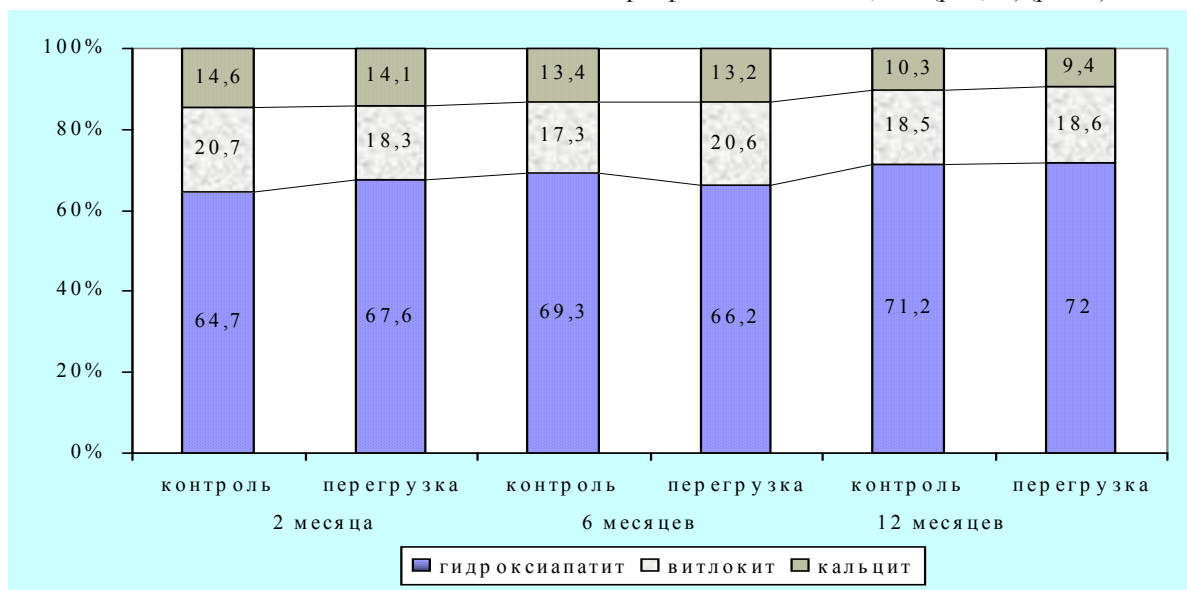


Рис. 1. Фазовые компоненты костного минерала проксимального эпифиза плечевой кости у крыс разного возраста (%)

При изучении кристаллографических параметров выявили, что гравитационные перегрузки привели к увеличению размеров элементарных ячеек вдоль оси  $c$  на 0,19% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольными животными. Это не сопровождалось достоверным изменением коэффициента  $c/a$ , что свидетельствует о неизменности степени их симметрии. Размеры блоков когерентного рассеивания (то есть, конгломератов элементарных ячеек или кристаллитов) превышали контрольные значения на 10,93%

( $p < 0,05$ ) (табл. 1), что говорит об уменьшении общей обменной поверхности костного минерала.

При оценке фазовых компонентов минерального матрикса плечевых костей шестимесячных животных установлено, что изменения носят обратный, в сравнении с данными предыдущей возрастной группы, характер. А именно, часть гидроксиапатита была сниженной относительно контроля на 4,47% ( $p < 0,05$ ), а аморфного фосфата кальция – увеличенной на 19,15% ( $p < 0,05$ ) (рис. 1). При изучении параметров

элементарных ячеек костного минерала под влиянием гравитационных перегрузок выявленные изменения сходны с такими же показателями у двухмесячных животных. Так, размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* превышали контрольные значения на 0,15% ( $p < 0,05$ ), а размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* и их соотношение находились в пределах контрольных значений. Размеры кристаллитов у животных, подвергавшихся систематическому воздействию

гипергравитации, были меньше, чем аналогичные показатели в контрольной серии на 15,25% ( $p < 0,05$ ). Это свидетельствует об интенсивных процессах роста кристаллов и о большой обменной поверхности костного минерала. Коэффициент микротекстурирования минерального компонента достоверно ( $p < 0,05$ ) превышал данные контроля на 34,38% (табл. 1), что говорит об увеличении однородности ориентации кристаллов.

Табл. 1.

**Некоторые показатели ультраструктуры гидроксиапатита плечевых костей крыс разного возраста, подвергавшихся действию гравитационных перегрузок**

Показатель	Возраст					
	2 месяца		6 месяцев		12 месяцев	
	Контроль	Перегрузка	Контроль	Перегрузка	Контроль	Перегрузка
Размер элементарной ячейки вдоль оси <i>a</i> , $10^{-10}$ м	9,416+0,003	9,554+0,142	9,350+0,003	9,352+0,002	9,368+0,001	9,407+0,002*
Размер элементарной ячейки вдоль оси <i>c</i> , $10^{-10}$ м	6,871+0,003	6,884+0,003*	6,835+0,003	6,845+0,002*	6,865+0,002	6,869+0,002
Коэффициент $c/a$ , $10^2$	72,963+0,027	72,106+1,080	73,094+0,044	73,191+0,013	73,279+0,014	73,023+0,010*
Размер блоков когерентного рассеивания, нМ	25,981+0,293	28,822+0,336*	25,659+0,478	21,747+0,516*	27,549+0,314	24,284+0,244*
Коэффициент микротекстурирования, у.е.	0,617+0,005	0,640+0,019	0,462+0,023	0,621+0,027*	0,522+0,003	0,619+0,025*

Фазовый состав костного минерала двенадцатимесячных животных соответствовал данным контроля, за исключением доли кальцита, которая была сниженной на 9,40% ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

Наиболее значимо в условиях гипергравитации кристаллографические характеристики костного гидроксиапатита изменялись у крыс этой возрастной группы. Отмечали увеличение размеров элементарных ячеек вдоль оси *a* на 0,41% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольными результатами и снижение коэффициента  $c/a$  на 0,35% ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Изменение параметров элементарных ячеек следует рассматривать как нарушение симметрии кристаллической решетки костного минерала, и, как следствие – дестабилизацию и склонность к разрушению.

Изменения размеров блоков когерентного рассеивания и коэффициента микротекстурирования имели ту же направленность, что и у шестимесячных животных, однако, были менее выраженными. Так, первый показатель не достигал контрольных значений на 11,85% ( $p < 0,05$ ), а второй был больше их на 18,65% ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

#### ВЫВОДЫ

Полученные результаты позволяют утверждать, что повторные шестидесятикратные гравитационные

гравитационные перегрузки вызывают изменения фазового состава и ультраструктуры минерального компонента проксимального эпифиза плечевой кости крыс двух-, шести- и двенадцатимесячного возраста.

Выявленные изменения выражаются у двухмесячных животных в повышении степени кристалличности костного минерала, неизменности симметрии элементарных ячеек и увеличении размеров кристаллитов, что свидетельствует о наличии изменений в третьей фазе минерализации органического матрикса – фазе роста кристаллов.

Аналогичные особенности процесса минерализации характерны и для шестимесячных животных. Нарушения в фазе роста кристаллов наблюдались на фоне уменьшения доли гидроксиапатита и возрастания содержания в костном минерале аморфного фосфата кальция.

У двенадцатимесячных животных процессы минерализации органического матрикса изменяются и во второй фазе – фазе образования ядер кристаллизации, о чем говорит нарушение симметрии кристаллической решетки. Также изменялся и фазовый состав костного минерала, в котором было снижено содержание карбоната кальция.

Таким образом, систематическое гипергравитационное воздействие приводит к нарушениям процессов минерализации органического матрикса кости у крыс всех исследованных возрастных групп.

В перспективе планируется проведение рентгенструктурного анализа костного минерала костей крыс, подвергавшихся действию гравитационных перегрузок с использованием разных способов повышения устойчивости к ним.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кутя С.А. Влияние гравитационных перегрузок на ультраструктуру минерального компонента костей в эксперименте / С.А. Кутя // Кліні. анат. та опер. хір. – 2009. – Т.8, №2. – С. 25 – 28.
2. Кутя С.А. Возрастные особенности фазового состава костного минерала крыс при воздействии гравитационных перегрузок / С.А. Кутя // Укр. морф. альм. - 2009. – Т.7, №2. – С. 71 – 72.
3. Ультраструктурное исследование биорезорбции керамического гидроксилапатита при заполнении костных дефектов / В.И. Лузин, В.В. Головченко, К.П. Гарбуз [и др.] // Морфология. – 2002. – Т. 121, № 2-3. – С. 94 – 95.
4. Luzin V.I. Combined use of hydroxyapatite ceramics and demineralized bone matrix for substitution of bone defects (an experimental study) / V.I. Luzin, V.V. Golovchenko, E.P. Berezhnoy // Calcified Tissue International. – 2002. – Vol. 70, №. – P. 3.
5. Пономарев В.В. Рентгенструктурные методы исследования в инженерной геологии. - М.: Недра, - 1981. – 194 с.
6. Азаров Л.В. Метод порошка в рентгенографии / Л.В. Азаров, М.Й. Бургер – М.: Изд-во иностр. литер., 1961. – 363 с.