

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КОСТНОГО МИНЕРАЛА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРТЕРМИИ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ КОРРЕКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.И.Лузин, С.М.Смоленчук

Кафедра анатомии человека (зав. – проф. В.Г.Ковешников) Луганского государственного медицинского университета

ЗМІНИ УЛЬТРАСТРУКТУРИ КІСТКОВОГО МІНЕРАЛУ ПІСЛЯ ДІЇ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ ТА МОЖЛИВОСТІ ЇЇ КОРЕКЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. В експерименті встановлено, що дія хронічної гіпертермії (ХГ) середнього і екстремального режимів супроводжується дестабілізацією кристалографічних параметрів та збільшенням ступеня аморфності кісткового мінералу. Поєднання ХГ з фізичним навантаженням посилює дані відхилення. Застосування інозину дозою 20 мг/кг щодоби згладжує негативний вплив ХГ на ультраструктуру кісткового мінералу.

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

Повышенная температура окружающей среды и тяжелый физический труд – неотъемлемая часть трудовой деятельности рабочих глубоких угольных шахт, металлургических комбинатов, некоторых сельскохозяйственных предприятий, моряков [1]. Хроническая гипертермия (ХГ) применяется и в лечении ряда хронических воспалительных заболеваний, в комплексном лечении онкопатологий [2]. Неизвестно, какой режим и длительность температурного воздействия вызывает необратимые патологические изменения в органах и тканях, какие есть возможности по предотвращению этих изменений, что и обуславливает актуальность данной работы.

Костная система является депо минеральных веществ. Состав и качество минерального составляющего кости служат показателем функциональной активности органа в целом. Предыдущие наши исследования показали, что после воздействия ХГ наблюдается замедление роста костей, снижение их прочности и дисбаланс химического состава [3-5].

Цель исследования. Изучить ультра-

структуру костного минерала белых половозрелых крыс после воздействия различных режимов ХГ с обоснованием возможной коррекции выявленных изменений.

Работа является фрагментом НИР Луганского медуниверситета "Влияние хронической гипертермии и физической нагрузки на морфогенез органов иммунной, эндокринной и костной систем организма" (№ 0107U004485).

Материал и методы. Исследование проведено на 270 белых крысах-самцах репродуктивного возраста с исходной массой 150-160 г, взятых из вивария ЛГМУ в один сезонный период. 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). Животные распределены на 9 групп по 30 в каждой: 1 (К) – группа интактных животных; 2-8 – группы животных, которые на протяжении 60 суток ежедневно по 5 часов находились под влиянием повышенной температуры в специальной термической камере; крысы группы 2 (Э) находились под влиянием температуры 44-45° С (режим экстр-

ремальной ХГ), 3 (С) – 42-43° С (режим ХГ средней степени тяжести), 4 (У) – 39-41° С (режим ХГ умеренной степени тяжести); животные 5 и 6 групп подвергались сочетанному воздействию Э- и С-режимов ХГ на фоне динамической физической нагрузки (плавание в бассейне 15-20 минут) – Э+Н и С+Н соответственно; крысам 7 и 8 групп на фоне воздействия Э- и С-режимов ХГ вводился предполагаемый корректор – синтетический препарат метаболитического ряда инозин (соответственно Э+И и С+И); инозин применялся в дозе 20 мг/кг внутривенно 1 раз в сутки за 1 час до помещения животных в условия гипертермии (Ю.Р.Рыболовлев, Р.С.Рыболовлева, 1979); животным 9 (КИ) группы вводился инозин без последующего помещения в условия гипертермии.

Животных выводили из эксперимента на 1-е, 7-е, 15-е, 30-е и 60-е сутки после окончания 60-дневного курса воздействий методом декантации под эфирным наркозом. Рентгеноструктурное исследование костного порошка большеберцовой кости проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5. Использовали К α излучение кобальта с длиной волны 0,179 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 мин. На полученных дифрактограммах исследовали наиболее выраженные дифракционные пики, по угловому положению которых рассчитывали межплоскостные расстояния и параметры элементарной ячейки костного гидроксилатапата. Определяли размеры блоков когерентного рассеивания по уравнению Селякова-Шерера и рассчитывали коэффициент микротекстурирования по методу соотношения рефлексов [6, 7]. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием пакета программ "Statistica" 5.11 for Windows.

Результаты исследования и их обсуждение. У интактных животных в ходе наблюдения размеры элементарных ячеек вдоль осей *a* и *c* увеличивались с $9,41 \pm 0,005 \text{ М}^{-10}$ до $9,422 \pm 0,006 \text{ М}^{-10}$ и с $6,872 \pm 0,003 \text{ М}^{-10}$ до $6,884 \pm 0,001 \text{ М}^{-10}$ (таблица). Соотношение параметров *c/a* оставалось практически неизменным и колебалось в пределах 73,02-73,06x10² у.е., что свидетельствует о равно-

весии между процессами резорбции и кристаллизации костного минерала. Размеры блоков когерентного рассеивания при этом возрастали с $41,91 \pm 0,50$ до $43,79 \pm 0,86 \text{ нМ}$, а коэффициент микротекстурирования, свидетельствующий об однородности ориентации кристаллов в кристаллической решетке, также увеличивался – с $0,4721 \pm 0,0165$ до $0,4851 \pm 0,0092$. Полученные данные совпадают с описанными в литературе и полученными нами ранее данными об ультраструктуре костного минерала у белых крыс репродуктивного возраста.

Влияние условий Э в течение 60 дней сопровождалось дестабилизацией кристаллографических параметров костного биоминерала: размеры элементарных ячеек вдоль осей *a* и *c* превосходили показатели контрольной группы соответственно на 0,26 и 0,42 %, а соотношение параметров *c/a* – на 0,16 % ($p > 0,05$). Такие отклонения свидетельствуют о дестабилизации элементарных ячеек и их разрушении.

Хотя параметры элементарной ячейки гидроксилатапата у животных, подвергшихся воздействию ХГ часто достоверно отличались от контрольных, амплитуда отклонений составляла, как правило, всего лишь 0,3-0,4 %. Это объясняется тем, что именно параметры элементарной ячейки из всей совокупности исследуемых кристаллографических показателей являются наиболее стабильными и их величина определяет тип минерала (В.И.Михеев, 1957). Статистическая достоверность различий проявлялась за счет достаточно высокой точности измерений и количества наблюдений.

Коэффициент микротекстурирования по окончании периода воздействия Э был меньше контрольных значений на 11,39 %, что свидетельствует об уменьшении однородности ориентации кристаллов в кристаллической решетке. Собственно блоки когерентного рассеивания (кристаллиты) были больше контрольных значений на 18,34 %, что является признаком увеличения степени аморфности костного минерала и уменьшения его общей обменной поверхности.

Кристаллографічні параметри костного мінерала, $M \pm m$

Група	Срок	Размер элементарной ячейки вдоль оси a , 10^{-10} М	Размер элементарной ячейки вдоль оси c , 10^{-10} М	Соотношение c/a , 10^2	Размер блоков когерентного рассеивания, нМ	Коэффициент микротекстурирования, у.е.
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
Э	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
У	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
Э+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
Э+И	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+И	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
И	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

* – достоверное отличие от группы К ($p < 0,05$).

Влияние условий С в течение 60 дней также сопровождалось дестабилизацией элементарных ячеек костного биоминерала: размеры вдоль осей *a* и *c* превосходили показатели контрольной группы соответственно на 0,23 и 0,37 %, а соотношение параметров *c/a* – на 0,13 % ($p > 0,05$). Коэффициент микротекстурирования был меньше контрольного на 13,25 %, а размеры кристаллитов возрастали на 16,71 %. Данные отклонения сходны по направленности с условиями Э, но в целом несколько меньше по амплитуде. Наконец, 60-дневное воздействие условий У также сопровождалось явлениями дестабилизации костного минерала, но выраженность их была значительно меньше, чем при режимах воздействия Э и С. Следует отметить лишь достоверное увеличение блоков когерентного рассеивания на 6,19 % и уменьшение содержания кристаллической фазы в костном минерале на 3,28 %. В этих условиях коэффициент микротекстурирования был мало достоверно ниже контрольных значений на 7,21 %.

Таким образом, влияние условий ХГ в течение 60 дней сопровождается дестабилизацией элементарных ячеек и кристаллитов костного гидроксилapatита, увеличением степени его аморфности, а также снижением степени упорядоченности кристаллической решетки. Выраженность изменений зависела от режима воздействия: максимальные отклонения регистрировались при режиме Э, минимальные – при режиме У.

Сочетание ХГ с физической нагрузкой после 60 дней воздействия сопровождалось усугублением негативных изменений в ультраструктуре костного минерала. Влияние условий Э+Н в течение 60 дней сопровождалось дестабилизацией кристаллографических параметров костного биоминерала: размеры элементарных ячеек вдоль осей *a* и *c* превосходили показатели К группы соответственно на 0,29 и 0,37 %, что свидетельствует о дестабилизации элементарных ячеек и их разрушении. Размеры блоков когерентного рассеивания превосходили контрольные значения на 26,81 %, что больше, чем в группе Э. Коэффициент микро-

текстурирования при этом был больше контрольных значений на 8,41 % ($p > 0,05$). Поскольку ранее нами было показано снижение прочности костей в условиях эксперимента, это можно объяснить тем, что с целью поддержания прочности кристаллы костного минерала выстраиваются вдоль линий силовой нагрузки. При условиях С+Н размеры элементарных ячеек вдоль осей *a* и *c* костного минерала превосходили показатели К группы соответственно на 0,3 и 0,43 %, что больше, чем в группе С и свидетельствует о более далеко зашедших процессах дестабилизации костного минерала и увеличении степени его аморфности. Это подтверждается и величиной коэффициента микротекстурирования, который был меньше значений группы К на 17,51 %. Размеры кристаллитов были больше контрольных на 19,36 %.

Таким образом, влияние условий ХГ в сочетании с физической нагрузкой в течение 60 дней также сопровождается дестабилизацией элементарных ячеек и кристаллитов костного гидроксилapatита, увеличением степени его аморфности, снижением степени упорядоченности кристаллической решетки. Амплитуда отклонений в этом случае в целом выше, чем при изолированном воздействии условий ХГ. Выраженность изменений зависела от режима воздействия: амплитуда отклонений в группе Э+Н была больше, чем в группе С+Н. Мало достоверное увеличение коэффициента микротекстурирования в группе Э+Н вероятно является компенсаторно-приспособительным процессом, в результате которого с целью поддержания прочности кристаллы выстраиваются вдоль линий силовой нагрузки.

Применение во время действия условий ХГ в качестве корректора инозина в некоторой степени сглаживало негативное влияние условий эксперимента. После 60 дней воздействия условий Э+И размеры элементарных ячеек вдоль осей *a* и *c* превосходили показатели К группы соответственно на 0,18 и 0,23 %, что меньше чем в группе Э. Соотношение *c/a* не изменялось. Размеры блоков когерентного рассеивания (кристаллитов) были больше показателей группы К

на 16,56 %, а коэффициент микротекстурирования (степень однородности ориентации кристаллов) был меньше контрольных значений на 6,62 % ($p > 0,05$), что значительно ближе к контролю, чем в группе Э. Что касается группы С+И, то на первые сутки наблюдения после окончания действия условий эксперимента размеры элементарных ячеек вдоль осей *a* и *c* достоверно превышали показатели группы К соответственно на 0,18 и 0,3 %, что меньше чем в группе С. Соотношение *c/a* не изменялось. Размеры блоков когерентного рассеивания были больше показателей К группы на 13,55 %, а коэффициент микротекстурирования был меньше контрольных значений на 10,03 % ($p > 0,05$), что значительно ближе к контролю, чем в группе С.

Таким образом, применение инозина в качестве корректора сглаживает негативное влияние условий ХГ на ультраструктуру костного минерала. Эффективность применения инозина зависела от режима воздействия ХГ: амплитуда отклонений изучаемых показателей от контроля в группе С+И была меньше, чем в группе Э+И. Применение инозина у животных не подвергавшихся воздействию условий ХГ, не сопровождалось изменениями ультраструктуры и фазового состава костного биоминерала.

В течение периода реадaptации возрастная направленность изменения ультраструктуры костного биоматериала в подопытных группах не изменялась, однако наблюдались количественные отклонения. К 60-му дню после окончания воздействия условий эксперимента в группах с изолированным воздействием ХГ наблюдалось восстановление размеров элементарных ячеек, которые достоверно не отличаются от контрольных. Соотношение параметров *c/a* при этом оставалось практически неизменным в обеих группах и не отличалось от контрольного на всех сроках наблюдения, что свидетельствует о равновесии между процессами резорбции и кристаллизации костного минерала. Блоки когерентного рассеивания в группах Э и С на 60-й день реадaptационного периода все еще превосходили контрольные показатели на 9,33 и 8,23 % ($p > 0,05$) со-

ответственно. Коэффициент микротекстурирования на поздних сроках наблюдения достоверно не отличался от контрольных значений, что свидетельствует о постепенном восстановлении однородности ориентации кристаллов в кристаллической решетке.

Таким образом, по окончании 60 суток реадaptационного периода в группах Э и С произошло восстановление размеров элементарных ячеек, однородности ориентации кристаллов в кристаллической решетке, однако костный минерал все еще характеризовался повышенной степенью аморфности и снижением общей обменной поверхности. В группе У в отличие от вышеописанных режимов наблюдалось полное восстановление ультраструктуры костного материала.

В группах сочетания ХГ с физической нагрузкой наблюдалась аналогичная тенденция: к 60-му дню размеры элементарных ячеек не имели достоверных отличий от контроля, степень упорядоченности кристаллической решетки увеличивалась, но достоверно превышала контрольные значения на 15,14 и 8,95 % в группах Э+Н и С+Н соответственно. Таким образом, реадaptационный период в группах с сочетанным действием двух факторов характеризовался стабилизацией элементарных ячеек и кристаллитов, однако повышенная степень аморфности и низкая упорядоченность кристаллической решетки сохранялась и была особенно выражена в группе Э+Н. Реадaptационный период в группах с применением корректора во время экспериментальных воздействий характеризовался быстрым восстановлением всех показателей ультраструктуры костного минерала: в группе Э+И – к 60-м суткам, в группе С+И – к 15-м.

Выводы. 1. Влияние условий хронической гипертермии (ХГ) сопровождается дестабилизацией кристаллографических параметров костного биоминерала, снижением степени упорядоченности кристаллической решетки, увеличением степени аморфности костного минерала и уменьшением его общей обменной поверхности. 2. В сравнении с режимами изолированной гипертермии сочетание ее с физической на-

грузкой сопровождается сходными по направленности, но большими по амплитуде отклонениями. 3. Применение инозина в качестве корректора в дозировке 20 мг/кг ежедневно сглаживает негативное влияние условий ХГ на ультраструктуру костного минерала. 4. По окончании реадaptационного периода в группах животных с изолированным воздействием ХГ и с сочетанием двух факторов происходит восстановление раз-

меров элементарных ячеек, однородности ориентации кристаллов в кристаллической решетке, однако костный минерал все еще характеризуется повышенной степенью аморфности и снижением общей обменной поверхности. 5. Реадaptационный период в группах животных с применением корректора характеризуется более быстрым и полным восстановлением всех показателей ультраструктуры костного минерала.

Литература

1. Биохимические механизмы снижения работоспособности моряков в условиях воздействия высоких температур и возможные пути ее фармакологической коррекции / Ю.Н.Белый, В.Г.Барчуков, И.С.Морозов, В.В.Рябиченко // Военно-мед. ж. – 1993. – № 1. – С. 65-67.
2. Осинский С.П. Гипертермия в комплексном лечении онкологических больных // Doctor. – 2003. – № 4. – С. 35-37.
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 // Укр. ж. экстрем. медицины ім. Г.О.Можасва. – 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 // Укр. морфол. альманах. – 2008. – № 3. – С. 52-56.
5. Смоленчук С.М. Особенности макроэлементного состава костей белых крыс, подвергшихся воздействию различных режимов хронической гипертермии в сочетании с физической нагрузкой и возможным корректором инозином / С.М.Смоленчук // Укр. морфол. альманах. – 2009. – № 1. – С. 64-167.
6. Миркин Л.И. Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм (справоч. рук.) / Миркин Л.И. – М.: Наука, 1981. – 496 с.
7. Пономарев В.В. Рентгеноструктурные методы исследования в инженерной геологии / Пономарев В.В. – М.: Недра, 1981. – 194 с.

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КОСТНОГО МИНЕРАЛА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРТЕРМИИ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ КОРРЕКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. В эксперименте установлено, что воздействие хронической гипертермии (ХГ) среднего и экстремального режимов сопровождается дестабилизацией кристаллографических параметров и увеличением степени аморфности костного минерала. Сочетание ХГ с физической нагрузкой усугубляет данные отклонения. Применение инозина в дозировке 20 мг/кг ежедневно сглаживает негативное влияние ХГ на ультраструктуру костного минерала.

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

CHANGES OF THE BONE MINERAL ULTRASTRUCTURE AFTER THE ACTION OF CHRONIC HYPERTHERMIA AND POSSIBILITIES OF ITS CORRECTION IN AN EXPERIMENT

Abstract. It has been established experimentally that the action of chronic hyperthermia (CH) of the middle and extreme modes are accompanied with a destabilization of crystallographic parameters and an increase of the amorphous degree of the bony mineral. A combination of CH with physical activity enhances these deviations. The use of inosine in a dose of 20 mg/kg daily smoothes away the negative effect of CH on the ultrastructure of the bone mineral.

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

State Medical University (Lugansk)

Надійшла 16.09.2009 р.

Рецензент – проф. В.З.Сікора (Суми)