

С.А. Кащенко, А.А. Захаров, С.Н. Семенчук

РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ МИНЕРАЛЬНОГО КОМПОНЕНТА КОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет
имени Святителя Луки» г. Луганск, Россия*

Целью настоящего исследования явилось проведение рентгеноструктурного анализа минерального компонента большеберцовой костей лабораторных крыс-самцов после проведенной тимэктомии. Проводили рентгеноструктурный анализ минерального компонента костного порошка. На дифрактограммах исследовали наиболее выраженные пики, по угловому положению которых рассчитывали параметры элементарной ячейки костного гидроксиапатита.

Ключевые слова: *костный минерал, тимус.*

S.A. Kashchenko, A.A. Zakharov, S.N. Semenchuk

X-RAY DIFFRACTION ANALYSIS OF THE BONE MINERAL COMPONENT IN AN EXPERIMENT

The purpose of this study was to conduct an X-ray structural analysis of the mineral component of the tibia of male laboratory rats after thymectomy. An X-ray diffraction analysis of the mineral component of the bone powder was carried out. The most pronounced peaks were studied in the diffraction patterns, and the unit cell parameters of bone hydroxyapatite were calculated from their angular position.

Keywords: *bone mineral, thymus.*

Актуальность. Костная система тесно связана с нервной, эндокринной и иммунной системами. По современным данным тимус является органом иммунологической защиты. В нем формируются Т-лимфоциты, эффекторные клетки, которые обеспечивают клеточный иммунитет и способствуют развитию и проявлению гуморального иммунитета. Вместе с тем, в тимусе продуцируются гормональные и биологически активные вещества, оказывающие влияние на морфогенез костей скелета [1]. В этой связи

Целью настоящего исследования явилось проведение рентгеноструктурного анализа минерального компонента большеберцовой костей лабораторных крыс-самцов после проведенной тимэктомии.

Материал и методы. Исследование проведено на 60 белых крысах – самцах с исходной массой 140г. При работе с экспериментальными животными руководствовались «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 18.03.86 г.). Тимэктомию производили под эфирным наркозом хирургическим способом. Контролем служили ложнопериорированные животные. Материал для исследования забирали через 7, 15, 30, 90 и 180 суток. Рентгеноструктурный анализ минерального

компонента костного порошка производили на рентгеновском дифрактометре ДРОН-3 с гониометрической приставкой ГУР-5. Использовали $K\alpha$ излучение меди с длиной волны 0,15433 нм, напряжение на анодной трубке составляло 30 кВ, сила анодного тока – 20 мА. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от 2° до 37° со скоростью записи 1° в 1 минуту. На дифрактограммах исследовали наиболее выраженные пики, по угловому положению которых рассчитывали параметры элементарной ячейки костного гидроксиапатита. Для гидроксиапатита исследовали дифракционный пик, расположенный в угловом диапазоне 30° – 34° , определяли его амплитуду. Наборы дифракционных максимумов соответствовали соединению $Ca_5(PO_4)_3(OH)$ (гидроксиапатит). Расчёт параметров гексагональной элементарной ячейки гидроксиапатита проводился вдоль осей A и C , а также расчёт её объёма выполнены с учётом гексагональной сингонии кристаллов [2]. Расчёты проводили по дифракционным максимумам с межплоскостными расстояниями $d/n=2,814_{100}(211)$, $d/n=2,778_{60}(112)$, $d/n=2,720_{60}(300)$. Размеры кристаллитов (блоков когерентного рассеивания) определяли методом Селякова-Шерера [2]. Статистическую обработку данных исследований проводили с помощью пакета прикладных статистических программ «Statistika 6.0 for Windows».

Результаты. Установлено, что размеры элементарной ячейки костного гидроксиапатита большеберцовой кости контрольных животных репродуктивного возрастного периода вдоль осей C и A в ходе наблюдения возрастают, при этом соотношение C/A практически не изменяется. Размеры блоков когерентного рассеивания увеличиваются от $24,563 \pm 0,15$ нм на 7-е сутки до $27,123 \pm 0,02$ нм на 180-е сутки, этот динамический процесс наиболее выражен в промежутке между 15-ми и 30-ми сутками наблюдения. Показатель объёма элементарной ячейки также возрастает от $525,748 \pm 1,450 \text{ \AA}^3$ (7сут.) до $530,292 \pm 1,152 \text{ \AA}^3$ (180сут.).

Проведенная тимэктомия не сопровождается выраженными изменениями основных кристаллографических параметров гидроксиапатита. Тем не менее, отмечается изменение отдельных размеров. Так, величина элементарной ячейки гидроксиапатита вдоль оси A в костном минерале подопытных животных несколько больше, чем в контроле на $2,12(10^{-3})\%$, $4,1(10^{-3})\%$, $4,1(10^{-3})\%$, на 7-е, 15-е и 30-е сутки наблюдения. Наиболее существенными эти различия были через 90 и 180 суток после тимэктомии и составляли $2,4(10^{-2})\%$ и $3,7(10^{-2})\%$ соответственно. Размер элементарной ячейки вдоль оси C был также достоверно больше в экспериментальных образцах, чем в контрольных на $1,4(10^{-3})\%$ (7сут.)– $8,7(10^{-3})\%$ (180сут.). Несмотря на изменение линейных размеров элементарной ячейки вдоль осей C и A коэффициент C/A изменяется незначительно, что указывает на стабильность состояния кристаллов и характеризует степень симметрии элементарных ячеек. Из произведенных расчётов следует, что объёмы элементарной ячейки у тимэктомированных крыс превышают контрольные

показатели через 7–180 суток после тимэктомии на 0,08%, 0,11%, 0,52%, 0,83%, 0,86% соответственно. Размеры блоков когерентного рассеивания у подопытных животных превышают контрольные значения только на 90-е и 180-е сутки наблюдения на 5,62% и 6,69% соответственно.

Для выяснения значимости каждого из факторов эксперимента (тимэктомия и длительность наблюдения), которые могли повлиять на объём элементарной ячейки и размеры кристаллитов гидроксиапатита был проведен двухфакторный дисперсионный анализ. Результаты данного анализа объёмов элементарной ячейки в динамике свидетельствуют о том, что расчетное значение критерия F для 1 фактора (воздействие) $= 3,17 \cdot 10^{-4}$ и для второго фактора (длительность наблюдения) $= 7,295 \cdot 10^{-5}$ не превышают верхнюю расчетную критическую границу (0,99) и (0,87). Это указывает на то, что различие межгрупповой дисперсии не превышает внутригрупповую. Таким образом, и первый и второй фактор не оказывают статистически значимого влияния на изменение объёмов элементарной ячейки гидроксиапатита.

В результате двухфакторного анализа с повторениями размеров кристаллитов (блоков когерентного рассеивания) установлено, что расчетное значение критерия F для 1 фактора (тимэктомия) равно 0,02 и не превышает верхнюю расчетную критическую границу (0,99), это свидетельствует о том, что различия межгрупповой дисперсии не превышают внутригрупповую. Таким образом, тимэктомия не оказывает существенного влияния на размеры кристаллитов (блоков когерентного рассеивания), то есть не является значимым фактором. В то же время, для второго фактора F-расчетное = 3,38, что превышает верхнюю критическую границу (0,87), таким образом, второй фактор (длительность наблюдения) статистически значимо воздействует на исследованный параметр. Вместе с тем, дефицит тимических гормонов, обусловленный удалением вилочковой железы, вызывает изменение в ультраструктуре минерального компонента большеберцовых костей, заключающееся в увеличении размеров кристаллитов, что может сопровождаться снижением скорости обменных процессов в костях подопытных животных.

Выводы. Таким образом, тимэктомия, произведенная крысам репродуктивного возраста, оказывает влияние на кристаллографические показатели гидроксиапатита.

Литература

1. Бреусенко Д.В., Димов И.Д., Клименко Е. С., Карелина Н.Р. Современные представления о морфологии тимуса // Педиатрия. – 2017. – Т.8. – №5. – С.93-95.
2. Горелик С.С., Расторгуев Л.Н., Скаков Ю.А. Рентгенографический и электроннооптический анализ. - М.: Металлургия, 1970. - 366 с.