

УДК 546.06

## Корреляционные зависимости между фазовым, элементным и аминокислотным составом физиогенных, патогенных ОМА и их синтетических аналогов\*

О.А. Голованова<sup>1</sup>, С.А. Герк<sup>1</sup>, А.Н. Куриганова<sup>2</sup>, Р.Р. Измайлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, пр. Мира 55а, Омск, Россия. E-mail: golovanoa2000@mail.ru

<sup>2</sup>НИИ «Нанотехнологии и наноматериалы», Южно-Российский государственный технический университет,

ул. Просвещения 132, Новочеркасск, Ростовская обл., Россия

Статья поступила 19.07.2012, принята 2.11.2012

*Изучение патогенных и физиогенных биоминералов и процессов их образования в организме человека является важнейшим направлением современного естествознания. Роль микроэлементов, аминокислот в данных процессах настоящее время до конца не изучена. Применение методов многомерной статистики позволяет развивать и углублять существующие знания о процессах фазообразования в живых организмах. Очевидны потенциальные возможности методов многомерной статистики для решения, скажем, проблем выделения особенностей различных заболеваний. В последнее время данные методы получили широкое распространение при анализе данных в области биохимии, биологии и медицины, в частности, патогенных минералов. В работе произведено комплексное изучение костной ткани человека. Используя современные физико-химические методы определен аминокислотный, элементный, фазовый состав нормальной и пораженной костной ткани. Обработка данных с использованием методов многомерной статистики (корреляционного, дискриминантного и др.) показала наличие корреляционных зависимостей между содержанием аминокислот в костной ткани и патогенными органо-минеральными агрегатами (ОМА). Так выяснено, что в физиогенных и патогенных биоапатитах преобладает глутаминовая кислота, что указывает на её важную роль в процессах образования кальций-фосфатных органо-минеральных агрегатов в организме человека. Выявлено наличие линейной зависимости между содержанием ионов натрия и калия, ионов кальция и общего фосфора, ионов железа и кальция. Таким образом, на основании проведенного исследования были установлены корреляционные зависимости между элементным и аминокислотным составом физиогенных и патогенных минералов, а так же по данным статистического анализа предложены показатели для определения степени поражения костной ткани:  $Na/K$ ,  $Ca/P$ ,  $Fe/Ca$ , которые могут быть использованы для получения синтетических материалов с заданными свойствами*

**Ключевые слова:** костная ткань, органо-минеральные агрегаты (ОМА), аминокислоты, микро- и макроэлементы, корреляционный анализ.

## Correlation dependences between phase, elemental and amino acid composition of physiogenic and pathogenic OMA and their synthetic analogues

O.A. Golovanova<sup>1</sup>, S.A. Gerk<sup>1</sup>, A.N. Kuriganova<sup>2</sup>, R.R. Izmaylov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dostoevsky Omsk State University, 55a Mira av., Omsk, Russia. E-mail: golovanoa2000@mail.ru

<sup>2</sup>Research Institute «Nanotechnologies and Nanomaterials», South Russian State Technical University, 132 Prosveshcheniya str., Novochechassk, Rostov region, Russia

The article received 19.07.2012, accepted 2.11.2012

*The study of pathogenic and physiogenic biominerals and their formation processes in the human body is the most important field of modern science. The role of trace elements, amino acids in the mentioned processes hasn't been studied to a full degree yet. The multivariate statistical methods application allows us to develop and deepen the existing knowledge about the phase formation processes in living organisms. The potential of the multivariate statistical methods is evident for solving, say, the problems of sorting out the features of different diseases. Recently, these methods have become a frequent practice while analysing the data in the field of biochemistry, biology and medicine, particularly, pathogenic minerals. The paper has presented a comprehensive study of human bone tissue. Applying the latest physico-chemical techniques, the amino acid, elemental, phase composition of sound and invaded bone tissue has been determined. The data processing with applying the methods of multivariate statistics (correlation, discriminant, and others) has demonstrated the existence of correlation dependencies between the amino acids content and pathogenic organo-mineral aggregates (OMA) in bone tissue. So, it has been found out that glutamic acid predominates in physiogenic and pathogenic bioapatites indicating its important role in the formation of calcium-phosphate organic-mineral aggregates in the human body. It has been revealed the existence of a*

\* Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-03-98011-р\_сибирь\_а и № 10-05-00881-а) и в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 - 2013 годы (проект № 14.B37.27.2037).

linear relationship between the content of sodium and potassium ions, calcium ions, and total phosphorus, iron and calcium ions. Thus, on the basis of both the conducted research and statistical analysis, the correlation dependencies between the elemental and amino acid composition of physiogenic and pathogenic minerals, as well as the indicators have been proposed to measure the bone tissue lesion degree:  $Na / K$ ,  $Ca / P$ ,  $Fe / Ca$ , which can be used to produce synthetic materials possessing the specified properties.

**Keywords:** bone tissue, organic-mineral aggregates (OMA), amino acids, micro- and macroelements, correlation analysis.

**Введение.** Изучение биоминералов и процессов их образования в организме человека является важнейшим направлением молодой науки биоминералогии. Роль микроэлементов, аминокислот в настоящее время до конца не изучена. Хотя известно, что многие из них в организме человека играют важную роль, как в обмене веществ, так и в поддержании внутренней осмотической стабильности тканевых жидкостей. В последнее время отмечается постоянный рост числа заболеваний опорно-двигательной системы, связанных с патогенными процессами. Число больных, нуждающихся в операциях по восстановлению целостности костей, довольно велико: для США эта цифра составляет 1 млн. человек и более ежегодно [1]. Таким образом, поиск решения проблем, связанных с образованием патогенных минералов в организме человека, приводящих к различным заболеваниям, является актуальным.

Цель работы – установление связи между аминокислотным, фазовым и элементным составом патогенных и физиогенных ОМА с использованием математических методов.

**Экспериментальная часть.** Объектами исследования являются головки бедренных костей жителей (мужчин и женщин) Омского региона в возрасте 30-80 лет, удаленные вследствие дегенеративно-дистрофических изменений при коксартрозе (100 шт.). Контрольными образцами выступают костные ткани бедренных головок, не пораженные костными заболеваниями («нормальные», 4 шт.). Весь материал распределяется по четырем возрастным группам (30-49, 50-59, 60-69, 70-79 лет) [2].

Поскольку в большинстве случаев при данном заболевании разрушению первоначально подвергается гиалиновый хрящ и поражается подлежащая костная ткань, исследование осуществлялось с учетом последовательности данных патогенных изменений. Этапы подготовки костной ткани для анализа включали ряд операций:

- удаление с головки бедренной кости остатков мягких тканей;
- разделение головки бедренной кости на три равные части и выпиливание из их середины трех горизонтальных костных срезов толщиной 0,2-0,5 см: верхний, средний, нижний – порядок чередования приведен в направлении «гиалиновый хрящ – бедренная

кость» (рис. 1). Подбор толщины образцов осуществлялся экспериментально, и для оценки изменений при данном заболевании оптимальным является приведенное выше значение. При получении срезов больше 0,5 см статистически значимых отличий между величинами, характеризующими содержание минеральных или органических веществ, не наблюдается.

При толщине костных пластин меньше, чем 0,2 см, анализируемая проба оказывается не представительной;

- последовательное промывание костных срезов от костной пыли проточной водой и 3 % раствором  $H_2O_2$  с целью удаления остатков крови, пигментов (время выдержки 10-15 мин.). Указанный интервал обработки перекисью водорода наиболее оптимален, более длительный может привести к денатурации растворимых коллагеновых и неколлагеновых белков;

- высушивание срезов на воздухе в эксикаторе;

- измельчение полученных костных срезов до примерно одинаковой дисперсности частиц;

- в случае присутствия очагов поражения костной ткани – кист (рис. 1) предварительно проводился отбор пробы из данных мест (вся ткань кисты) и близлежащих участков (расстояние от кисты вглубь костного среза составляло 0,2 см);

- высушивание проб при 100-105 °С (60 мин) и определение содержания влаги по ГОСТ 17681-82 [3];

- отбор представительной средней пробы методом квартования для анализа.

После чего пробоподготовка костных тканей проходила в соответствии с требованиями выбранного инструментального метода. Состав разных поврежденных пластинок сравнивался между собой и с контрольными образцами.

Изучение качественного фазового состава кристаллической основы костной ткани осуществлялось на дифрактометрах ДРОН-3 XRD-7000 с оптической поликапиллярной системой фирмы Shimadzu. Дифрактограммы костных образцов получены «методом порошка» с использованием монохроматизированного  $CuK\alpha$ -излучения ( $\lambda \approx 1,540 \text{ \AA}$ ). Чувствительность метода РФА для данных измерений составляла 3 %. Для получения более полной информации по составу органической компоненты костных тканей исследовался их аминокислотный состав с помощью жидкостной хроматографии на аминокислотном анализаторе ААА-39М.

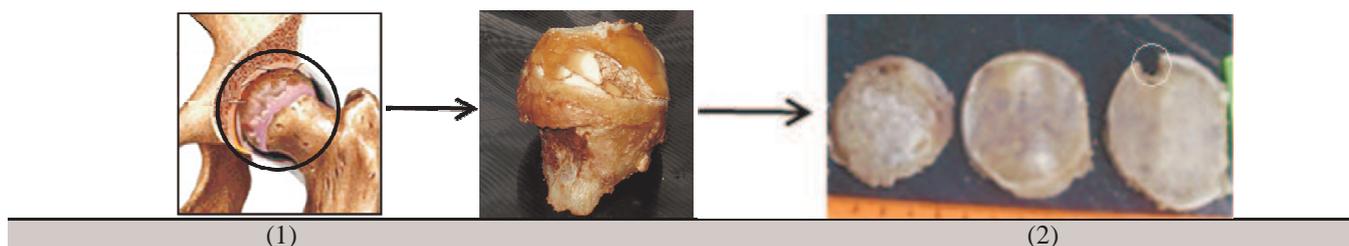


Рис. 1. Схема получения из головки бедренной кости человека (1) костных срезов для анализа (2).

Методика пробоподготовки заключалась в получении белковых гидролизатов костных проб путем кислотной деминерализации пептидных связей и их последующее разделение на различные аминокислотные фракции.

Кислотный гидролиз средней пробы (1,5 г) 6 н. HCl проводился при температуре 105 °С в течение 24 часов [4]. Аминокислотное разделение осуществлялось в ионообменной колонке анализатора буферными растворами с различными значениями pH: 3,5; 4,25; 9,45. Для обнаружения и количественного определения аминокислот полученный элюат смешивался с раствором нингидрина (гидрат 1,2,3-индантриона C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) и исследовался спектрофотометрическим методом ( $\lambda_{эфф} = 570$  нм, для пролина  $\lambda_{эфф} = 440$  нм). Конечный результат фиксировался в виде площади пика и времени выхода соответствующей аминокислоты. Содержание аминокислот определяли методом градуировочного графика (в качестве стандарта использовались растворы с известным содержанием соответствующих аминокислот).

Предел обнаружения аминокислотного состава составлял 10<sup>-4</sup> масс. %, относительное стандартное отклонение 0,04.

Содержание элементов в костной ткани исследовалось с помощью масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на масс-спектрометре ELAN 9000, Perkin Elmer. Чувствительность измерений ~ 10<sup>-9</sup>–10<sup>-13</sup>%, погрешность ~ 0,5 %. Содержание таких элементов, как кальций и фосфор, определяли, используя атомно-абсорбционную спектроскопию. Чувствительность метода составляла 10<sup>-6</sup> %, погрешность определений – не более 1 %.

**Результаты и их обсуждение.** По данным рентгенофлуоресцентного анализа (РФА), кристаллическая фаза костной ткани представлена плохо окристаллизованным гидроксилатапатитом, основным интенсивным линиям ко-

торого соответствуют межплоскостные расстояния  $d$ , Å: 3.43, 3.08, 2.80, 2.73, 2.27, 1.95, 1.84, 1.74 (рис. 2). Малая интенсивность и полуширина дифракционных отражений указывают на его низкую кристалличность. Такая окристаллизованность минерала связана с присутствием аморфной компоненты в виде коллагена, других органических веществ и фосфатов кальция [5]. На дифрактограммах пораженных образцов, в сравнении с «нормальной» костной тканью, отмечается повышение фоновых сигналов в области 10<sup>0</sup>–23<sup>0</sup> 2 $\theta$ , а также менее разрешенные и уширенные рефлекссы, что свидетельствует об увеличении содержания органических веществ, меньшей окристаллизованности и структурной упорядоченности минеральной основы кости при патологии. Можно предположить, что на степень аморфизации в данном случае влияет характер протекающих патогенных процессов.

Из рис. 2 следует, что наиболее близкой к «норме» по степени разрешения рефлекссов является дифрактограмма нижнего среза пораженной костной ткани. Это может указывать на направление развития изменений костного апатита от верхнего среза к нижнему.

На дифрактограммах (XRD-7000 с оптической поликапиллярной системой фирмы Shimadzu) пораженных образцов, где отмечаются костные полости (кисты), обнаружены рефлекссы с межплоскостными расстояниями 3.301 Å и 2.065 Å, отнесенные нами предположительно к модификации карбоната кальция – ватериту, который наиболее часто встречается в патогенных образованиях в организме человека (рис. 3) [6]. Остальные пики, характерные для данного минерала – 2.733 Å, 3.576 Å, 1.856 Å, 1.647 Å, 1.140 Å – лежат в области 2 $\theta$  углов гидроксилатапатита. В связи с чем, их идентификация в виде отдельных рефлекссов затруднительна. Вероятно, образование подобных примесных фаз является одной из причин повышенной твердости патогенных костных образцов [7].

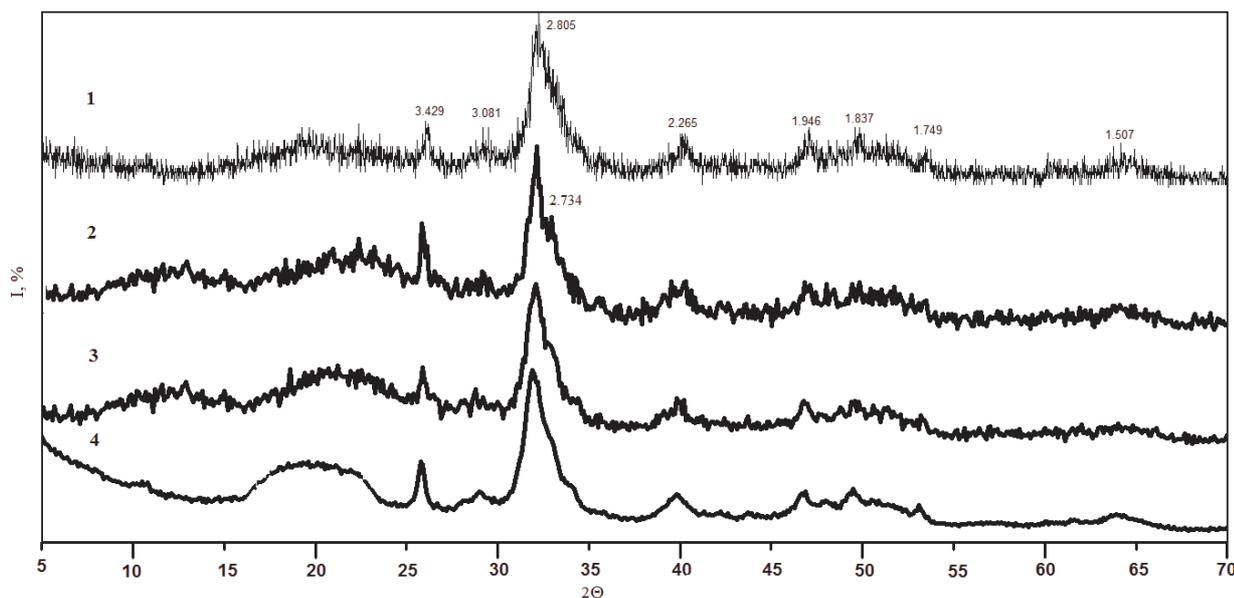


Рис. 2. Рентгенограммы «нормального» (1) и пораженных нижнего (2), среднего (3), верхнего (4) срезов костной ткани человека.

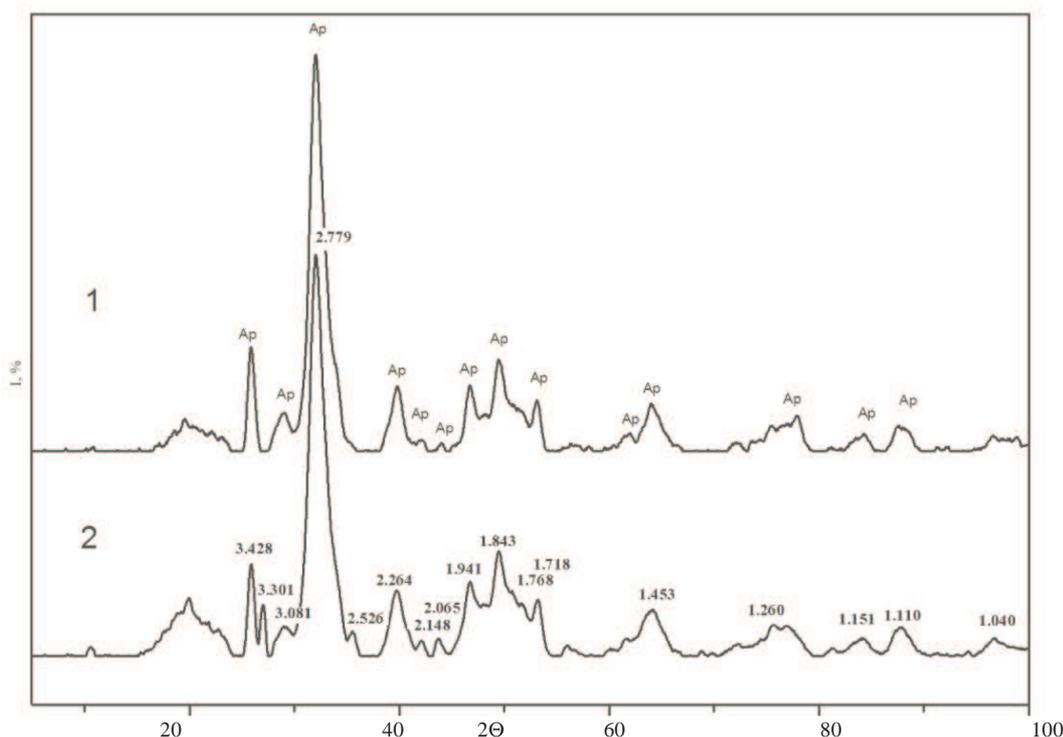


Рис. 3. Рентгенограммы «нормального» (1) и пораженного верхнего среза костной ткани (2) человека.

**Аминокислотное распределение в костных тканях по данным ионно-обменной жидкостной хроматографии.** В костных тканях определено количественное содержание 13 аминокислот (таблица 1). Установлено, что, независимо от степени поражения костных проб, их качественный и количественный аминокислотный состав одинаков. Проведено ранжирование аминокислот по их содержанию в костной ткани. Полученные концентрационные ряды сопоставлены с аминокислотным набором патогенных биоминералов (зубные, слюнные, почечные камни).

**Контрольные костные образцы:**

*Glu>Gly>Ile>Leu>Ala>Pro>Lys>Arg>Thr>Val>Phe>Ser>Met;*

**Нижние срезы костных образцов:**

*Glu>Gly>Ile>Leu>Ala>Lys>Pro>Arg>Thr>Val>Phe>Ser>Met;*

**Средние срезы костных образцов:**

*Glu>Gly>Ile>Leu>Lys>Pro>Ala>Arg>Thr>Val>Phe>Ser>Met;*

**Верхние срезы костных образцов:**

*Glu>Gly>Ile>Leu>Ala>Lys>Pro>Arg>Thr>Ser>Val>Phe>Met.*

**Зубные камни:**

*Gly>Ser>Ala>Glu>Asp>Lys>Phe>Val>Leu>Thr>Ile>His>Arg>Tyr>Met*

**Слюнные камни:**

*Gly>Ser>Phe>Lys>Arg>Asp>Tyr>Leu>Glu>Val>Ala>His>Ile>Thr>Met* [8];

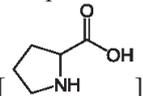
**Почечные камни (фосфатный тип):**

*Gly>Lys>Ala>Pro>Thr>Val>Glu>Ser>Phe>Arg>Met>Leu>Ile* [9].

Видно, что как в физиогенных, так и в патогенных биоапатитах преобладает глутаминовая кислота, что указывает на ее важную роль в процессах образования

кальций-фосфатных органоминеральных агрегатов в организме человека. Известно, что данная аминокислота существует в растворе в виде заряженных цвиттер-ионов, способных сорбироваться на положительных и отрицательных областях поверхности гидроксилатапата. В работах [10] показано, что механизм такой адсорбции хорошо описывается в рамках моделей Лэнгмюра и Фрейндлиха. Авторы [11] указывают также на возможность химического взаимодействия кислоты с ионами кальция данного минерала. Как установлено авторами [10], электростатическое действие глутаминовой кислоты приводит к ингибированию процессов роста и агрегации кристаллов гидроксилатапата. Вследствие чего на поверхности минерала образуется монослой из небольших низкокристаллизованных кристаллов. Ингибирующее влияние кислоты возрастает с увеличением соотношения Ca/P твердой фазы и pH «маточных» растворов [10]. Очевидно, подобное влияние глутаминовой кислоты на процессы костной минерализации может являться одной из причин низкой кристалличности апатита кости и ее уменьшения при исследуемом повреждении, сопровождающемся повышением Ca/P коэффициента. Кроме того, доминирующей по содержанию аминокислотой костных тканей и преобладающей – зубных камней является глицин, что свидетельствует о сходстве процессов формирования данных минеральных образований. Глицин является основным компонентом упорядоченной кристаллической полипептидной цепи коллагена (-Glu-X-Y-), участки волокон которого служат местом кристаллизации костного апатита [11]. Как и глутаминовая кислота, глицин способен ингибировать процессы его кристаллизации. Однако механизм ингибирующего влияния в случае участия глицина отличается и заключается в замещении его анионными формами гидроксил-ионов в структуре гидроксилатапата.

Аминокислотный состав костной ткани человека, масс. % ( $n = 3, P = 0,95$ )

№	Аминокислота [Формула]	Сокращенное название	«Норма»	Патология		
				Верх	Середина	Низ
1	Изолейцин [CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH (CH <sub>3</sub> )CH (NH <sub>2</sub> )COOH]	Ile	1,6±0,34	1,41±0,24	1,34±0,33	1,36±0,38
2	Треонин [CH <sub>3</sub> CH(OH)CH (NH <sub>2</sub> )COOH]	Thr	0,34±0,07	0,29±0,05	0,31±0,06	0,31±0,07
3	Серин [HOCH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> ) COOH]	Ser	0,26±0,05	0,29±0,15	0,23±0,04	0,23±0,05
4	Глицин [H <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> COOH]	Glu	2,66±0,47	2,33±0,34	2,38±0,36	2,42±0,45
5	Аланин [CH <sub>3</sub> CH(NH <sub>2</sub> ) COOH]	Ala	0,94±0,19	0,8±0,13	0,72±0,3	0,84±0,18
6	Валин [(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH (NH <sub>2</sub> )COOH]	Val	0,34±0,07	0,29±0,05	0,3±0,05	0,3±0,07
7	Метионин [CH <sub>3</sub> SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> )COOH]	Met	0,15±0,03	0,13±0,02	0,13±0,03	0,13±0,03
8	Лейцин [(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> )COOH]	Leu	1,25±0,27	1,11±0,19	1,03±0,26	1,07±0,02
9	Глутаминовая кислота [HOOCCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CHNH <sub>2</sub> COOH]	Gly	2,14±0,42	1,84±0,30	1,88±0,32	1,92±0,42
10	Пролин 	Pro	0,86±0,22	0,7±0,17	0,73±0,18	0,74±0,22
11	Фенилаланин [PhCH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> ) COOH]	Phe	0,28±0,06	0,24±0,04	0,25±0,05	0,25±0,06
12	Лизин [H <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH (NH <sub>2</sub> )COOH]	Lys	0,85±0,18	0,72±0,13	0,74±0,13	0,76±0,18
13	Аргинин [HN=C(NH <sub>2</sub> )NH (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH(NH <sub>2</sub> ) COOH]	Arg	0,56±0,12	0,49±0,1	0,49±0,11	0,5±0,13

Глутаминовая аминокислота и глицин способны образовывать полипептидные хелатные комплексы с ионами кальция минеральной компоненты кости, что придает ей дополнительную прочность [10].

В значительных количествах в физиогенных биоминералах также присутствует изолейцин и лейцин, а в патогенных – серин, аланин, фенилаланин, лизин и пролин.

Для установления половозрастных особенностей аминокислотного состава «нормальных» костных тканей человека проведена статистическая обработка данных

содержания аминокислот в нижних пораженных костных срезах с использованием t-критерия Стьюдента.

Данные расчетов показали, что средние их концентрации в возрастном интервале 30-59 лет не зависят от половой и возрастной принадлежности костных образцов. После 60 лет выявлены достоверные отличия содержания аминокислот по половому и возрастному признаку. Для костных тканей мужчин и женщин третьей возрастной группы критерий Стьюдента при  $P = 0,95$  составляет  $t_{\text{расч}} = 2,14 > t_{\text{табл}} = 2,06$ , а для четвертой –  $t_{\text{расч}} = 2,50 > t_{\text{табл}} = 2,06$  (отличие по полу).

В костных образцах мужской кости по возрасту наблюдаются следующие вариации концентраций аминокислот (рис. 4): в 60-69 лет уменьшение (3 группа), а в 70-79 лет (4 группа) – незначительное увеличение.

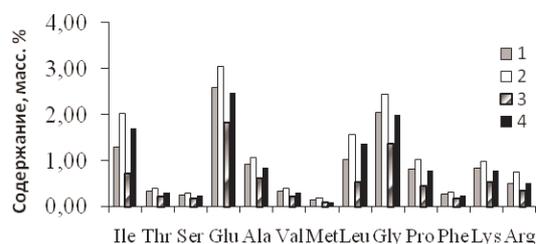


Рис. 4. Содержание аминокислот в костной ткани мужчин разных возрастных групп, лет: 30-49 (1); 50-59 (2); 60-69 (3); 70-79 (4).

В женских костных образцах достоверное уменьшение концентраций аминокислот отмечается в возрастном интервале 70-79 лет (рис. 5).

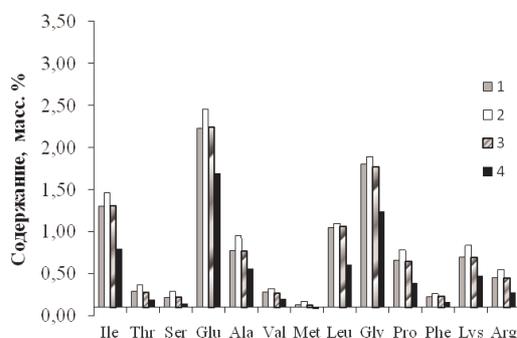


Рис. 5. Содержание аминокислот в костной ткани женщин разных возрастных групп, лет: 30-49 (1); 50-59 (2); 60-69 (3); 70-79 (4).

Показано, что четвертая возрастная группа отличается по аминокислотному составу от других категорий (для первой и четвертой, третьей и четвертой групп –  $t_{расч} = 2,19 > t_{табл} = 2,06$ ; для второй и четвертой групп –  $t_{расч} = 2,93 > t_{табл} = 2,06$ ;  $P = 0,95$ ).

Уменьшение средних концентраций в третьей и четвертой возрастных группах может являться следствием процессов общего старения кости. Это подтверждает существующее мнение о том, что в данном возрасте у мужчин и женщин (в большей степени) преобладают такие заболевания, как остеопороз [13].

Таким образом, в костной ткани определено количественное содержание 13 аминокислот. Показано, что, как в контрольных, так и поврежденных пробах в больших концентрациях присутствуют глицин, глутаминовая кислота, лейцин и изолейцин. Обозначена

особая роль глутаминовой кислоты и глицина в формировании минеральной компоненты костных тканей.

По половозрастным особенностям аминокислотного состава костных тканей отмечено: до 60 лет, как в группе мужчин, так и женщин существует одинаковая тенденция увеличения общего содержания аминокислот, после чего наблюдается варьирование их концентраций. Ранее такая закономерность была получена при анализе кристалличности костного апатита разных возрастных категорий. По нашему мнению, формирование костной ткани после 60 лет в мужском и женском организме протекает по-разному и зависит от интенсивности процессов старения, заболеваний (не только костных) в данном возрасте и т. п.

По данным атомно-абсорбционного (ААС) и спектрофотометрического анализа для костных тканей рассчитано отношение кальция к фосфору (Ca/P), характеризующее образование минеральных фаз в организме человека. Известно, что интервал его варьирования составляет 1,37-1,77 [14] и включает кальций, фосфор фосфатных составляющих: гидроксилатапата и аморфного фосфата кальция.

Нами установлено, что в костных образцах нижняя граница составляет порядка 0,8. Такое отличие от литературных данных, по-видимому, обусловлено типом анализируемой костной ткани. Анализ результатов показал (таблица 2), что значение Ca/P коэффициента нижней пораженной пластинки близко к «норме», что подтверждает приведенные ранее данные о направлении течения коксартроза от верхнего среза к нижнему.

Полученные результаты подтверждены методами многомерной статистики (дискриминантный анализ). Из диаграммы рассеиваний канонических значений (рис. 6) следует, что наиболее пораженная костная ткань (верхняя пластинка) отличается по Ca/P коэффициенту от менее поврежденного нижнего среза и «нормы».

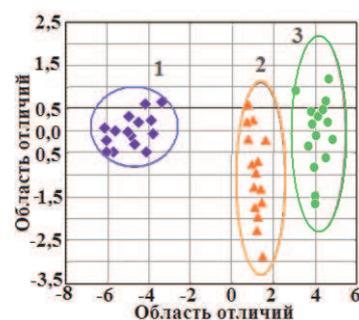


Рис. 6. Диаграмма разделения костной ткани головки бедренной кости человека на группы по содержанию Ca/P: пораженные верхний (1) и нижний (2) срезы; «норма».

Таблица 2

Содержание Ca/P в «нормальной» и пораженной костной ткани головки бедренной кости человека: женщин (1), мужчин (2) (50-59 лет) ( $P = 0,95$ ;  $n = 3$ )

Костный срез	(1)	(2)	«Норма»
Верхний	1,19±0,001	1,81±0,01	0,89±0,04
Средний	1,23±0,02	1,24±0,02	0,95±0,05
Нижний	0,91±0,01	1,08±0,02	0,83±0,09

С увеличением степени поражения костных срезов (от нижнего к верхнему) соотношение данных элементов достоверно возрастает, как в группе мужчин, так и женщин.

Следует отметить, что Ca/P коэффициент увеличивается за счет уменьшения содержания кальция и в большей степени фосфора, что обусловлено прежде изоморфными замещениями кальциевых позиций катионами металлов, фосфатных тетраэдров карбонат- и другими ионами [14].

Сравнение значений атомного отношения Ca к P поврежденной ткани, кист и близлежащих с кистой участков одного костного среза показало, что данная величина в кистозной области уменьшается в два раза, а в околокистозной увеличивается во столько же раз (таблица 3, на примере костной ткани женщины 46 лет).

Таблица 3

Содержание Ca/P в костной ткани кист и окружающих их областей (женщина, 46 лет) (P = 0,95; n = 3)

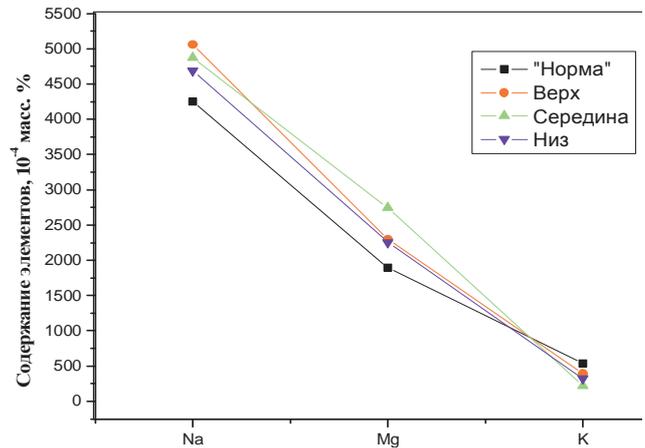
Костный срез	Значение Ca/P
Верхний	1,22±0,03
Средний:	
– поврежденная костная ткань	1,49±0,08
– кистозное пространство	0,72±0,002
Околокистозное пространство	3,07±0,002
Нижний	0,89±0,05

Меньшее значение данного параметра в ткани кисты указывает на протекание процессов разрушения минеральной фазы при повреждении. Завышенное значение Ca/P в околокистозном пространстве можно объяснить частичной локализацией ионов кальция из ткани кисты в данные участки и понижением содержания общего фосфора.

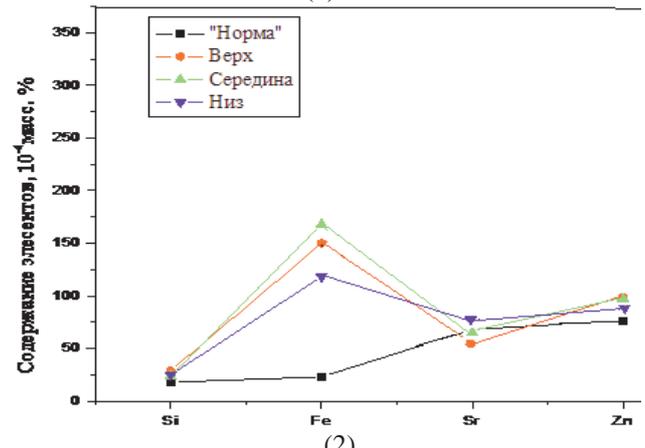
**Содержание макро- и микроэлементов в костных тканях по данным масс-спектропии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС).** По данным МС-ИСП в исследуемых образцах определено 66 элементов. Известно, что основной причиной накопления их в костной ткани, является способность элементов, как замещать ионы кальция и фосфатные тетраэдры в структуре костного апатита, так и адсорбироваться на его поверхности [5]. По увеличению концентраций элементов в костных пробах для диапазона данных  $10^{-6}$ –0,5 масс. % проведено ранжирование и построены ряды последовательности: макроэлементы: Na, Mg, K ( $10^{-2}$ –0,5 масс. %), микроэлементы Zn, Si, Fe, Sr ( $10^{-3}$ – $10^{-2}$  масс. %), ультрамикроэлементы Ni, Al, Cr, Ba, Ti, Cu, Co, Mn, Sn ( $10^{-6}$ – $10^{-3}$  масс. %), другие элементы (PЗЭ, U, Th, Zr, Hf и др.) обнаружены в исследуемых пробах в концентрациях меньше  $10^{-6}$  масс. %.

Выявлено, что близкими по их массовому составу и последовательности являются первая и вторая возрастные группы. В третьей и четвертой категориях наблюдается разброс значений, что может быть связано с процессами старения костной ткани и наличием сопутствующих заболеваний в данном возрастном интервале.

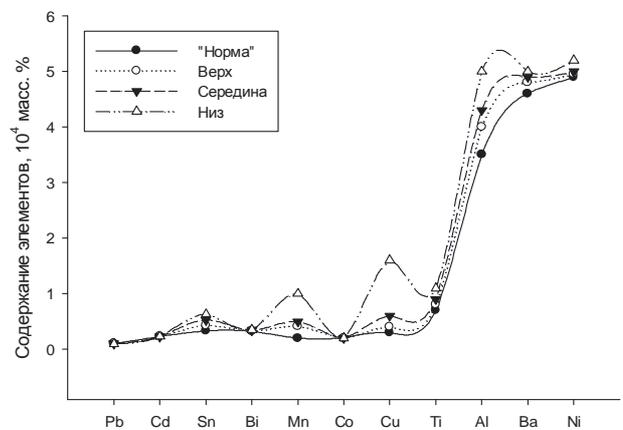
Показано, что порядок следования элементов по уменьшению концентраций практически одинаков во всех «нормальных» (Na > Mg > K > Fe > Zn > Sr > Si > Cr > Ni > Al > Ba > Cu > Mn > Ti > Co > Sn) и поврежденных (Na > Mg > K > Zn > Sr > Si > Fe > Ni > Al > Ba > Cr > Ti > Cu > Co > Mn > Sn) срезах. В пораженной ткани, по сравнению с «нормой», отмечено отличие по ионам хрома и железа, что указывает на варьирование их концентраций при патологии.



(1)



(2)



(3)

Рис. 7. Содержание макро- (1), микро- (2) и ультрамикроэлементов (3) в «нормальной» и поврежденной костной ткани человека.

Абсолютное содержание элементов во всех срезах «нормальной» костной ткани одинаково и близко по массовому количеству к нижним поврежденным срезам, что согласуется с данными РФА, ИК-спектроскопии, термического и др. анализов о характере развития заболевания от верхней костной пластинки к нижней. В пораженных верхних срезах наблюдается увеличение концентраций ионов железа, марганца, меди и олова (рис. 7). В отдельных патогенных образцах отмечается повышенное количество ионов хрома.

Из данных таблицы 4 следует, что в поврежденных верхних костных срезах по сравнению с контрольными пробами повышено содержание меди в 3 раза, олова – в 4 раза, железа – в 11 раз, марганца – в 16 раз, хрома – в 18 раз.

Таблица 4

Содержание элементов в костной ткани мужчин и женщин 30-49 и 50-59 лет

Элемент	Массовая доля элементов в костной ткани, % ( $n = 4, P = 0,95$ )	
	Верхний срез	«Норма»
Na	0,46±0,14	0,44±0,02
Mg	0,22±0,01	0,19±0,007
K	(0,28±0,13) · 10 <sup>-1</sup>	(0,58±0,13) · 10 <sup>-1</sup>
Zn	(0,81±0,23) · 10 <sup>-2</sup>	(0,77±0,01) · 10 <sup>-2</sup>
Si	(0,27±0,05) · 10 <sup>-2</sup>	(0,19±0,03) · 10 <sup>-2</sup>
Fe	(0,17±0,11) · 10 <sup>-1</sup>	(0,15±0,01) · 10 <sup>-2</sup>
Sr	(0,61±0,10) · 10 <sup>-2</sup>	(0,72±0,03) · 10 <sup>-2</sup>
Ni	(0,46±0,10) · 10 <sup>-3</sup>	(0,44±0,15) · 10 <sup>-3</sup>
Al	(0,44±0,14) · 10 <sup>-3</sup>	(0,29±0,11) · 10 <sup>-3</sup>
Ba	(0,37±0,08) · 10 <sup>-3</sup>	(0,21±0,14) · 10 <sup>-3</sup>
Cr	0,18 · 10 <sup>-2</sup>	(0,10±0,03) · 10 <sup>-3</sup>
Ti	(0,98±0,42) · 10 <sup>-4</sup>	(0,99±0,14) · 10 <sup>-4</sup>
Cu	(0,16±0,15) · 10 <sup>-3</sup>	(0,49±0,13) · 10 <sup>-4</sup>
Co	(0,30±0,21) · 10 <sup>-4</sup>	(0,18±0,02) · 10 <sup>-4</sup>
Mn	(0,14±0,02) · 10 <sup>-3</sup>	(0,82±0,47) · 10 <sup>-5</sup>
Sn	(0,19±0,10) · 10 <sup>-4</sup>	(0,40±0,04) · 10 <sup>-5</sup>

Физиологическая роль данных элементов в некоторой степени может указывать на характер патогенных процессов. Избыточное количество меди, марганца, железа свидетельствует о нарушении течения процессов минерализации костной ткани [14]. Повышенные концентрации в ряде образцов токсичного элемента хрома также указывает на разрушающий (дегенеративный) характер метаболизма при данном заболевании. Роль олова в костном обмене в настоящее время не изучена.

**Выводы.** Кристаллическая фаза костной ткани

представлена плохо окристаллизованным за счет наличия органической составляющей гидроксилпатитом.

1. В костной ткани определено количественное содержание 13 аминокислот. Показано, что, как в контрольных, так и поврежденных пробах в больших концентрациях присутствуют глицин, глутаминовая кислота, лейцин и изолейцин. Обозначена особая роль глутаминовой кислоты и глицина в формировании минеральной компоненты костных тканей.

2. Выявлено наличие линейной зависимости ( $n = 4, P = 0,95$ ) между содержанием ионов натрия и калия ( $r = 0,96$ ), ионов кальция и общего фосфора ( $r = 0,71$ ), ионов железа и кальция ( $r = 0,71$ ).

Таким образом, на основании проведенного исследования были установлены корреляционные зависимости между элементным и аминокислотным составом физиогенных и патогенных минералов. По данным статистического анализа предложены показатели для определения степени поражения костной ткани: Na/K, Ca/P, Fe/Ca, которые могут быть использованы для получения синтетических материалов с заданными свойствами [15].

#### Литература

11. Вересов А.Г., Пугтяев В.И., Третьяков Ю.Д. Химия неорганических материалов на основе фосфатов кальция // Российский химический журн. 2004. Т. 48. № 4. С. 52 – 63.
12. Лемешева С.А., Голованова О.А., Туренков С.В. Исследование особенностей состава костных тканей человека // Химия в интересах устойчивого развития. 2009. № 3. С. 327-332.
13. ГОСТ 17681 – 82. Мука животного происхождения. Методы испытаний. М.: Изд-во стандартов, 2000. С. 3 – 4.
14. ГОСТ 13496.4 – 93. Корма, комбикорма, комбикормовое сырьё. Методы определения содержания азота и сырого протеина. М.: ИПК Изд. Стандартов.
15. Корого Л.А. Введение в биоминерологию. СПб.: Недра, 1992. 280 с.
16. Минералогическая энциклопедия / под ред. Булаха А.Г., Кривовича В.Г. Л.: Недра, 1985. 512 с.
17. Danilchenko S.N., Pokrovskiy V.A., Bogatyrov V.M., Sukhodub L.F., Sulkio-Cleff B. Carbonate location in bone tissue mineral by X-ray diffraction and temperature-programmed desorption mass spectrometry // Crystal Research and Technology. 2005. Vol. 40. № 7, P. 692 – 697.
18. Бельская Л.В. Зубные и слюнные камни – химический состав, генетические особенности: дис. ... канд. хим. наук. Омск: ОмГУ им. Ф.М. Достоевского, 2009. 158 с.
19. Голованова О.А. Биоминерология мочевого, желчного, зубных и слюнных камней из организма человека: дис. ... д-ра геол.-минерал. наук. Омск, 2009. 333 с.
20. Голованова О.А., Понамарева Е.Ю., Франк-Каменецкая О.В. Влияние компонентов биологической среды на формирование гидроксилпатита // Химия в интересах устойчивого развития. 2008. Т. 16. № 3. С. 1-6.
21. Габуда С.П., Гайдаш А.А., Дребушак В.А., Козлова С.Г. Физические свойства и структура воды в фибриллярных белках коллагенового типа по данным сканирующей электронной калориметрии // Письма в журнал экспериментальной и теоретической физики. 2005. Т. 82, № 9. С. 693 – 696.
22. Johnston C.C., Melton L.J. III Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. СПб., 2000. С. 297 – 320.
23. Прохончуков А.А., Жижина Н.А., Тигранян Р.А. Гомеостаз костной ткани в норме и при экстремальных условиях. М.: Наука, 1984. – 200 с.
24. Königsberger E., Königsberger L. Biomineralization – Medical Aspects of Solubility // John Wiley & Sons Ltd. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England, 2006. 312 p.
25. Измайлов Р.Р., Герк С.А., Голованова О.А., Панова Т.В. Синтез гидроксилпатита при вариации параметров синовиальной

жидкости человека // Бутлеровские сообщения. Казань. 2011. Т. 24, № 3. С. 133-137

## References

1. Veresov A.G., Putlyaev V.I., Tretyakov Yu.D. Chemistry of inorganic materials based on calcium phosphate // *Rosssky khimichesky zhurnal*. – 2004. – Т. 48. – № 4. – С. 52 – 63.
2. Lemesheva S.A., Golovanova O.A., Turenkov S.V. Investigation of the features of human bone tissue // *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*. 2009. № 3. S. 327-332.
3. GOST 17681 – 82. Muka zhivotnogo proiskhozhdeniya. Metody ispytany. – М.: Izd. standartov, 2000. – С. 3 – 4.
4. GOST 13496.4 – 93. Korma, kombikorma, kombikormovoye syro. Metody opredeleniya sodержaniya azota i syrogo proteina. – М.: ИПК Изд. Standartov.
5. Korago L.A. Introduction to biomineralogy. – Spb.: Nedra, 1992. – 280 s.
6. Mineralogical Encyclopedia / Pod red. Bulakha A.G., Krivovicha V.G. – Leningrad: Nedra, 1985. – 512 s.
7. Danilchenko S.N., Pokrovskiy V.A., Bogatyrov V.M., Sukhodub L.F., Sulkio-Cleff B. Carbonate location in bone tissue mineral by X-ray diffraction and temperature-programmed desorption mass spectrometry // *Crystal Research and Technology*. – 2005. – V. 40. – № 7. – P. 692 – 697.
8. Belskaya L.V. Dental and salivary stones – chemistry, genetic features: Dis. ... k.kh.n. – Omsk: OmGU im. F.M. Dostoyevskogo, 2009. – 158 s.
9. Golovanova O.A. Biomineralogy of urinary, biliary, dental and salivary stones from the human body: Dis. ... d.g.-m.n. – Omsk: OmGU im. F.M. Dostoyevskogo, 2009. – 333 s.
10. Golovanova O.A., Ponamareva Ye.Yu., Frank-Kamenetskaya O.V. The influence of the components of the biological matrix on the formation of hydroxyapatite // *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*. – 2008. – Т. 16. – № 3. – С. 1-6.
11. Gabuda S.P., Gaydash A.A., Drebuschak V.A., Kozlova S.G. Physical properties and structure of water in the fibrous protein collagen type according to the scanning electron calorimetry // *Pisma v zhurnal eksperimentalnoy i teoreticheskoy fiziki*. – 2005. – Т. 82. – № 9. – С. 693 – 696.
12. Johnston S.S. Bone densitometry //SS. Johnston, L.J. Melton III // *Osteoporoz. Etiologiya, diagnostika, lecheniye*. – SPb., 2000. – С. 297 – 320.
13. Prokhonchukov A.A., Zhizhina N.A., Tigranyan R.A. Bone homeostasis in normal and extreme conditions. – М.: Nauka, 1984. – 200 s.
14. Königsberger Ye., Königsberger L. Biomineralization – Medical Aspects of Solubility / John Wiley & Sons Ltd. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England, 2006. – 312 p.
15. Izmaylov R.R., Gerk S.A., Golovanova O.A., Panova T.V. Synthesis of hydroxyapatite by varying the parameters of synovial fluid // *Butlerovskie soobshcheniya*. – Kazan. № 3, 2011. – Т.24.- С. 133-137

УДК 548.5

## Математическая модель образования малорастворимых соединений на основе уравнения Фоккера – Планка\*

О.А. Голованова<sup>1</sup>, С.А. Герк<sup>1</sup>, А.Н. Куриганова<sup>2</sup>, Р.Р. Измайлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского, пр. Мира 55а, Омск, Россия. E-mail: golovanoa2000@mail.ru

<sup>2</sup>НИИ «Нанотехнологии и наноматериалы», Южно-Российский государственный технический университет, ул. Просвещения 132, Новочеркасск, Ростовская обл., Россия

Статья поступила 19.07.2012, принята 2.11.2012

*Кристаллизация является чрезвычайно сложным и многостадийным физико-химическим процессом, включающим в себя стадию нуклеации и рост образовавшихся зародышей. Установление кинетических закономерностей представляет собой актуальную задачу современных исследований. Одним из подходов определения кинетических параметров кристаллизации является математическое моделирование. В статье предлагается модель образования малорастворимых соединений в живых организмах, построенная на основе физической модели кристаллизации в почке. При построении математической модели были сделаны следующие допущения: рассматривается предельный режим гетерогенной кристаллизации при спонтанном образовании кристаллов и отсутствии вторичной нуклеации. Образующиеся кристаллы сохраняют свою форму, расклевывание, коагуляция и эволюция кристаллов во внимание не принимаются. Математическое описание процесса кристаллизации при сделанных допущениях основано на уравнении Фоккера – Планка. Для проведения вычислительного эксперимента была написана программа в среде Borland C++ Builder. Для численного решения системы уравнений исходными являются данные о составе кристаллизующегося вещества, молярных концентрациях ионов, пересыщении, минимальном и максимальном размере кристаллов. В результате получены зависимость количества образующихся кристаллов от времени и плотность распределения кристаллов по размерам в различные моменты времени. Для верификации полученных данных проведено экспериментальное изучение кристаллизации фосфатов и оксалатов кальция для проверки адекватности модели. Установлено, что уравнение Фоккера – Планка с принятыми допущениями может быть использовано для теоретического и экспериментального моделирования процессов фазообразования, в частности стадии нуклеации, в биологических жидкостях.*

**Ключевые слова:** математическое моделирование, уравнение Фоккера – Планка, биоминерализация, мочевые камни, кинетика кристаллизации.

\* Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-03-98011-р\_сибирь\_а и № 10-05-00881-а) и в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 - 2013 годы (проект № 14.B37.27.2037).