

На правах рукописи

ГОЛОВАНОВА Ольга Александровна

**БИОМИНЕРАЛОГИЯ МОЧЕВЫХ, ЖЕЛЧНЫХ, ЗУБНЫХ
И СЛЮННЫХ КАМНЕЙ ИЗ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА**

Специальность 25.00.05 – минералогия, кристаллография

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора геолого-минералогических наук

Томск - 2009

Работа выполнена на кафедре кристаллографии Санкт-Петербургского государственного университета и кафедре неорганической химии Омского государственного университета им. Ф.М. Достоевского

Научный консультант: доктор геолого-минералогических наук,
профессор Франк-Каменецкая О.В.

Официальные оппоненты: академик РАН,
доктор геолого-минералогических наук
профессор Юшкин Н.П.
доктор геолого-минералогических наук
профессор Сальников В.Н.
доктор геолого-минералогических наук,
ведущий научный сотрудник Сокол Э.В.

Ведущая организация: Казанский государственный университет

Защита состоится «04» февраля 2009 г. в _____ часов в ауд. ____ на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций ДМ.212.269.03 при Томском политехническом университете, адрес: 634050, Томск пр. Ленина, 30.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Томского Политехнического университета

Автореферат разослан « ____ » _____ 2008 г.

Ученый секретарь
к.г.-м.н.

Лепокурова О.Е.,

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Ухудшение экологической обстановки в крупных промышленных мегаполисах приводит к постоянному росту заболеваний, связанных с камнеобразованием в организме человека, что обуславливает необходимость разработки новых методов лечения и профилактики этих болезней. В связи с этим за последние 10–15 лет интерес к изучению патогенных агрегатов и условий их образования в организме человека существенно возрос.

Механизмы образования и роста кристаллических фаз, входящих в состав камней, связанные со сложным взаимодействием живого и косного вещества, на данный момент изучены недостаточно и являются дискуссионными. В первую очередь, это обусловлено молодостью биоминералогии, которая только за последние десятилетия сформировалась как самостоятельная интенсивно развивающаяся наука. Трудности изучения патогенных минералов связаны, в первую очередь, со сложным вещественным и элементным составом камней, являющихся органоминеральными агрегатами (ОМА), содержащими как минеральную (часто очень плохо окристаллизованную), так и органическую компоненты, которые очень трудно разделить. Большую роль, несомненно, играет и отсутствие необходимых контактов между специалистами разных областей знаний (минералогами, кристаллографами, медиками и химиками).

Для того чтобы продвинуться в направлении понимания закономерностей генезиса мочевых, желчных и других камней в организме человека, необходимо более детально изучить их вещество, привлекая широкий круг современных инструментальных методов, а для установления особенностей образования и роста кристаллических фаз, входящих в их состав, активно использовать методы теоретического и экспериментального моделирования. Исследования такого рода в настоящее время ведутся во многих научных центрах, но до окончательного решения проблемы еще далеко.

Представляемая работа посвящена биоминералогии мочевых, желчных, зубных и слюнных камней – основных патогенных органоминеральных агрегатов, образующихся в организме человека.

Основные задачи диссертационной работы:

1. Обобщение и критический анализ накопленных знаний по вещественному составу и гипотезам образования патогенных агрегатов в организме человека.
2. Разработка комплексного подхода к исследованию патогенного минералообразования в организме человека, включающего детальное изучение основных патогенных органоминеральных агрегатов из организма человека, соответствующих камнеобразующих сред, а также широкое применение методов теоретического и экспериментального моделирования в прототипах биологических жидкостей.
3. Детальное исследование представительной коллекции почечных, желчных, зубных и слюнных камней (их морфологии, структуры, минерального и химического состава); установление связей между компонентами ОМА.

4. Изучение параметров желчи и ротовой жидкости в норме и патологии; установление связей между характеристиками ОМА и соответствующих камнеобразующих сред.
5. Изучение условий фазообразования в моче и ротовой жидкости.
6. Изучение онтогении камней. Установление особенностей кристаллизации основных патогенных фаз в организме человека.

Научная новизна работы. Результаты выполненных исследований можно квалифицировать как новое крупное научное достижение в области биоминералогии. На основе обобщения обширного экспериментального и теоретического материала рассмотрен комплекс проблем, связанных с особенностями генезиса почечных, желчных, зубных и слюнных камней – основных патогенных образований в организме человека. Выявлены отличия состава патогенных биологических сред (желчь, ротовая жидкость) от находящихся в норме и установлены связи между характеристиками камнеобразующих сред и фазовым составом патогенных образований. Впервые на основе термодинамических расчетов и экспериментов детально изучены условия фазообразования в моче и ротовой жидкости. Показано, что патогенное фазообразование в организме человека крайне неравновесно. Установлена особая роль апатита как наиболее стабильной фазы, встречающейся практически во всех камнях. Доказано, что образование микроэлементами мочи (Fe, Al, Zn, Sr, Ti, Cu) малорастворимых соединений с оксалат и фосфат анионами раствора термодинамически невозможно из-за малого содержания их в растворе на фоне во много раз превышающей концентрации катионов кальция. Для мочевых камней впервые установлено селективное соответствие между основной минеральной компонентой (оксалатной, фосфатной, уратной) и набором аминокислот; выявлены основные типы распределения по объему камня органической компоненты (ядерная, прослоенная, диффузная); показано наличие связей между содержанием микроэлементов и аминокислот. Выявлено избирательное влияние неорганических (фосфат-, карбонат-анионы и катионы магния) и органических (оксалат-анионы, аминокислоты) компонентов физиологического раствора на образование основных фаз уратитов. Установлено сильное воздействие компонентов камнеобразующей среды на кинетику кристаллизации увеллита и гидроксилapatита: аминокислоты оказывают ингибирующее действие на рост кристаллов этих соединений, обусловленное их адсорбционным взаимодействием с поверхностью растущего кристалла и зависящее от их природы и концентрации; электростатическое взаимодействие аминокислот с апатитом зависит от нестехиометричности его состава; кристаллизацию увеллита замедляет также наличие в растворе катионов магния и повышение концентрации фонового электролита (эффект ионов магния максимален по сравнению с действием других добавок). Обнаружено, что присутствие в растворе кристаллов гидроксилapatита оказывает каталитическое действие на кристаллизацию увеллита.

Практическая значимость. Материалы данной работы переданы в медицинские учреждения Омска (МСЧ № 6, ОмОКБ, БСМП и Западно-Сибирский

Федеральный медицинский центр, диагностический центр г. Омска, городская стоматологическая поликлиника № 1 г. Омска) и Санкт-Петербурга (Центр остеопороза, МЧС № 122, Военно-медицинская академия им. Кирова, МАПО, ГМУ им. акад. И.П. Павлова, поликлиника № 20, стоматологическая клиника «ЛИК» Санкт-Петербурга др.) и используются при проведении лечения и профилактики моче-, желче- и слюнно-каменных болезней. На основании фазового и химического состава биоагрегатов и свойств камнеобразующих сред пациентам даются практические рекомендации по диете, образу жизни; страдающим слюнно-каменной болезнью – по уходу за полостью рта. Новый способ (заявка № 2006 110490/15/(011425)) выявления патологий в полости рта у «компьютерщиков» на основе особенностей кристаллизации слюны широко используется в стоматологической поликлинике № 1 и на кафедре клинической стоматологии ОмГМА г. Омска. Результаты по изучению влияния состава питьевой воды на уровень заболеваемости почечнокаменной болезнью жителей Омского региона нашли применение в разработке и внедрении методов водоподготовки в ОАО «Омскводоканал». Разработанный способ определения микроколичеств белковых соединений в почечных камнях (патент на изобретение № 2239195) широко используется для разделения и изучения органической и минеральной компонент почечных, зубных, слюнных и др. камней, а также зубов и костей в различных учебных и научных центрах Санкт-Петербурга, Омска, Барнаула, Новосибирска (СПбГУ, ОмГУ, ОмГПУ, ОмГМА, ОмГАУ, Аналитический центр ОИГТиМ СО РАН г. Новосибирска, Центр коллективного пользования ИППУ СО РАН г. Омска и др.).

Результаты работы используются также в курсах «Кристаллическое вещество в живых организмах» для студентов-магистрантов кафедры кристаллографии геологического факультета СПбГУ, «Биологическая минералогия» для студентов IV курса кафедры геологии и геоэкологии географического факультета РГПУ им. Герцена, а также для постановки студенческих и аспирантских исследований, проводящихся на кафедрах «Кристаллографии» СПбГУ и «Неорганической химии» ОмГУ. Под руководством и при участии автора успешно выполнены 22 дипломных и 3 диссертационные работы.

Фактическую основу диссертации составляют результаты изучения вещества мочевых, желчных, зубных и слюнных камней из организма человека и соответствующих камнеобразующих сред, а также теоретического и экспериментального моделирования фазообразования и кристаллизации основных патогенных биоминералов.

Коллекция патогенных органоминеральных агрегатов в количестве 535 образцов была сформирована из камней, удаленных по медицинским показаниям в процессе лечения жителей Омска и Санкт-Петербурга. Все образцы были паспортизированы (сопровождены анкетными и медицинскими данными). Для хранения этих данных и удобства обработки, полученных в ходе исследования результатов, была создана специализированная база данных.

Исследование вещества органоминеральных агрегатов было проведено методами порошковой рентгенографии, ИК-спектроскопии, микротомографии, поляризационной и электронной микроскопии. Кроме того, были использова-

ны различные химические методы (рентгеноспектральный микрозондовый анализ, атомно-абсорбционная спектроскопия, эмиссионный спектральный анализ, рентгено- флуоресценция с синхротронным излучением, атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) и др.) Часть химических анализов проводили после разделения (по оригинальной методике) минеральной и органической компонент исследуемых образцов. При изучении белковой составляющей использовали также методы Кельдаля, Бенедикта и обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии. Определения состава камнеобразующих сред (желчи и ротовой жидкости) проводили с помощью адаптированных биохимических методик. Синтез аналогов биоминералов (уевеллита, апатита) в прототипах биологических сред выполняли методом осаждения из раствора. Кинетические характеристики кристаллизации уевеллита и апатита изучали с привлечением кондуктометрического и дисперсионного методов. Термодинамические и математические расчеты закономерностей кристаллизации фаз, входящих в состав патогенных агрегатов, проводили с использованием разработанных моделей.

Экспериментальные исследования и анализ выявленных закономерностей осуществлены автором самостоятельно и совместно с сотрудниками, аспирантами и студентами кафедры кристаллографии СПбГУ, кафедры неорганической химии ОмГУ, а также других учебных и научно-исследовательских организаций Омска и Санкт-Петербурга, являющимися соавторами публикаций по теме диссертации. Постановка задач и основные обобщения концептуального характера выполнены автором.

На защиту выносятся следующие положения и результаты

1. При переходе в патогенное состояние концентрация основных неорганических компонентов в биологических жидкостях повышается, а содержание белковых и других органических составляющих может как увеличиваться (желчь), так и уменьшаться (смешанная слюна). В процессе камнеобразования состав физиологических растворов претерпевает существенные, часто периодические, изменения, что проявляется в многофазности камней, их микрогетерогенности, зональности и в переменном составе большинства патогенных биоминералов.
2. Патогенное фазообразование в организме человека крайне неравновесно, что доказано термодинамическими расчетами и модельными экспериментами. Широкая распространенность одноводного оксалата кальция (уевеллита) и основного фосфата кальция (апатита) связана с высоким пересыщением биологического раствора относительно этих фаз. Величина pH раствора оказывает более существенное влияние на фазообразование, чем варьирование начальных концентраций компонентов. Наибольшая стабильность апатита, связанная с более широким интервалом условий его образования, объясняет его встречаемость практически во всех мочевых, зубных и слюнных камнях.
3. Для камней, минеральная компонента которых состоит из органических соединений (оксалатные и мочекислые уролиты; холестериновые холелиты), характерна сферолитовая структура и прямой рост фаз из пересыщенных растворов. Для фосфатных камней (фосфатные уролиты, дентолиты и саливолиты)

характерно зернистое скрытокристаллическое строение и образование путем осаждения вещества (седиментации). Неорганические примеси камнеобразующей среды (компоненты фонового электролита, катионы магния и др.) ингибируют кристаллизацию минералов почечных камней. Присутствие в моче кристаллов гидроксилapatита, напротив, инициирует процесс кристаллизации уевеллита. Кинетика нуклеации малорастворимых соединений почечных, зубных и слюнных камней может быть описана уравнением Фоккера-Планка.

4. Белковая компонента (прежде всего аминокислоты) активно участвует в образовании кристаллических фаз мочевых, зубных и слюнных камней. Существует селективное соответствие между основной минеральной компонентой мочевых камней (оксалатной, фосфатной, уратной) и набором аминокислот. Имеет место адсорбционное ингибирование аминокислотами кристаллизации уевеллита и гидроксилapatита, зависящее от природы кислоты и её концентрации, а в случае гидроксилapatита также от степени нестехиометричности его состава. Ингибирующий эффект аминокислот сопоставим с воздействием компонент фонового электролита, но меньше, чем тормозящее влияние катионов магния.

Апробация работы и публикации. Основные результаты работы опубликованы в двух монографиях (1 коллективная), 52 научных статьях и двух авторских свидетельств на изобретение, а также представлены более чем в 104 сообщениях (устные доклады, стенды и опубликованные тезисы) на международных и всероссийских конференциях и семинарах: International Conference «Basic Science for Medicine» (Новосибирск, 2007), Международном семинаре «Минералогия и жизнь» (Сыктывкар, 2007), IV Международной конференции «Кинетика и механизм кристаллизации. Нанокристаллизация. Биокристаллизация» (Иваново, 2006, 2008), V Международной конференции «Спектроскопия, рентгенография и кристаллохимия минералов (Казань, 2005), Topical Meeting «Nanoparticles, Nanostructures and Nanocomposites» (Saint-Petersburg, 2004, 2006, 2007), Международном совещании «Происхождение и эволюция биосферы» (Новосибирск, 2005), Международных симпозиумах «Биокосные взаимодействия» (Санкт-Петербург, 2002, 2004, 2007), Международной конференции геология и рациональное недропользование «Экогеология – 2003» (Санкт-Петербург, 2003), Международном совещании «Проблемы природопользования в районах со сложной экологической ситуацией» (Тюмень, 2003), Международной конференции «Углерод: минералогия, геохимия и космохимия», (Сыктывкар, 2003), Международном совещании академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности (Омск, 2002), IV Международных Симпозиумах «Минералогические музеи» (Санкт-Петербург, 2002 и 2005), Международной конференции «Кристаллогенезис и минералогия» (Санкт-Петербург, 2001, 2007), Международной конференции «Рентгенография и Кристаллохимия минералов» (Санкт-Петербург, 2003, Миасс, 2007), Международной конференции «Химия, химическая технология и биотехнология на рубеже тысячелетий» (Томск, 2006, 2007), Международной конференции «Углерод: минералогия, геохимия и космохимия» (Санкт-Петербург, 2001), Международном семинаре «Кварц • Кремнезем», (Сыктывкар, 2004), 60-той Федоровской сессии (Санкт-Петербург, 2006), Конференции

молодых ученых (Ростов-на-Дону, 2006), IV Национальной кристаллохимической конференции (Черноголовка, 2006), семинарах «Минералогия техногенеза» (Миасс, 2000–2006), Пятом семинаре СО РАН – УрО РАН «Термодинамика и материаловедение» (Новосибирск, 2005), I и II Российском совещание по органической минералогии (Санкт-Петербург, 2002, Петрозаводск, 2005), XV Российское совещание по экспериментальной минералогии (Сыктывкар, 2005), Всероссийским симпозиуме «Химия: фундаментальные и прикладные исследования, образование» (Хабаровск, 2002), Молодежных конференциях «Молодые ученые на рубеже третьего тысячелетия» (Омск, 2001–2008), Всероссийской конференции «Химический анализ веществ и материалов (Москва, 2000).

Объем и структура работы. Диссертация содержит 333 страницы текста, 122 рисунка, 86 таблиц, список литературы из 460 наименований. Она состоит из введения, 5 глав и заключения. Во введении кратко описывается история развития биоминералогии и дается общая характеристика работы. В первой главе с разной степенью детальности охарактеризованы методы и подходы, использованные в процессе выполнения исследования; детально описаны методики, разработанные и усовершенствованные автором. Вторая глава содержит результаты изучения вещества мочевых, зубных, слюнных камней и соответствующих камнеобразующих сред; пятая глава – желчных камней и желчи. В этих же главах с использованием полученных результатов критически обсуждаются гипотезы формирования органоминеральных агрегатов. В главах три и четыре приводятся результаты теоретического и экспериментального моделирования фазобразования и кристаллизации основных компонентов камней. В заключение на основе совокупности полученных результатов дается сравнительный анализ условий образования мочевых, зубных, слюнных и желчных камней; обсуждаются основные особенности патогенного минералообразования в организме человека

Работа представляет итог 9–летних исследований, выполненных автором в постоянном творческом содружестве с сотрудниками, аспирантами и студентами кафедры кристаллографии СПбГУ, кафедры неорганической химии ОмГУ, а также кафедры химии и клинической стоматологии ОмГМА, кафедры биохимии и микробиологии ОмГАУ, Центром коллективного пользования ИППУ СО РАН г. Омска и др.

Исследования были частично поддержаны грантами РФФИ (проекты: № 03-05-65278 и № 06-05-65165) и программой Университеты России (проект ур.09.01.351), а также грантами «Молодых ученых» ОмГУ (проекты: № 01.2.006 06.422, № 01.0.40 001544 и № 01.20.0301084, МК-3113). Часть работ проводилась по договору с Областной администрацией г. Омска.

Благодарности. Я благодарна счастливому стечению обстоятельств, которое дало мне возможность проводить исследования (обучаясь в докторантуре) на кафедре кристаллографии СПбГУ в тесном творческом и просто человеческом общении с сотрудниками университета и других учебных и научно-исследовательских учреждений Санкт-Петербурга – интереснейшими людьми, являющимися квалифицированными специалистами в различных областях знаний. Благодарю аспирантов и студентов кафедры кристаллогра-

фии СПбГУ и кафедры неорганической химии ОмГУ принимавших участие в исследованиях и являющихся соавторами многих публикаций

От всей души благодарю за содействие и полезное критическое обсуждение материалов диссертации Ю.О. Пунина, Е.Б. Трейвуса, А.К. Гуца, В.И. Вершинина, а также всех сотрудников кафедры кристаллографии СПбГУ и неорганической химии ОмГУ за поддержку.

Считаю своим долгом с благодарностью отметить роль профессора В.Ф. Борбата в выполнении данной диссертационной работы – именно он обратил внимание диссертанта на проблему патогенного образования в организме человека и поставил перед ним задачу проведения исследований в данном направлении.

Особая благодарность моему научному консультанту профессору О.В. Франк-Каменецкой, которая была непосредственным участником работы и инициатором ряда направлений проведенного исследования.

Крайняя признательность также моей семье и особенно мужу, Ю.В. Голованову, за неоценимую помощь и поддержку.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ **(по защищаемым положениям)**

Обобщение и критический анализ накопленных знаний по вещественному составу и гипотезам образования патогенных агрегатов в организме человека показали, что накопленный фактический материал, полученный на разных этапах развития биоминералогии, не является полным и требует уточнения, систематизации и переосмысления. Представления о механизмах образования камней находятся на уровне гипотез и являются дискуссионными.

В настоящей работе исследование основных моментов патогенного минералообразования в организме человека проведено на основе комплексного подхода, включающего детальное изучение основных патогенных органоминеральных агрегатов (мочевых, зубных, слюнных и слюнных камней) и соответствующих камнеобразующих сред с использованием широкого круга современных инструментальных методов (табл. 1 и 2), а также привлечение теоретического и экспериментального моделирования. Коллекция камней, удаленных по медицинским показаниям в процессе лечения жителей Омска и Санкт-Петербурга, состояла из уролитов (241), холиолитов (185), дентолитов (69) и саливолитов (10).

В процессе работы были разработаны методики экстракционного разделения минеральной и органической составляющих органоминеральных композитов любой природы и проведена их апробация; подобраны и адаптированы взаимодополняющие методы изучения патогенных агрегатов из организма человека; разработана термодинамическая расчетная модель фазообразования малорастворимых соединений в прототипах биологических жидкостей; показана возможность использования математической модели, основанной на уравнении Фоккера-Планка, для прогнозирования кинетики нуклеации минералов почечных, зубных и слюнных камней; усовершенствованы

методы синтеза основных минералов почечных камней (уевеллита и апатита), адаптированы методы изучения особенностей кристаллизации одноводного оксалата кальция и гидроксилapatита.

Таблица 1

Методы исследования ОМА

<i>Метод</i>	<i>Задачи</i>	<i>№ образцов</i>
Рентгенография поликристаллов	Фазовый анализ. Определение параметров элементарной ячейки	535
ИК-спектроскопия	Характеристики органической и минеральной составляющих, определение кол-ва и положения CO_3^{2-} ионов апатите, наличия OH^- , HPO_4^{2-} групп и молекул H_2O	535
Поляризационная микроскопия	Изучение структуры, морфологии и фазового состава агрегатов	150
Растровая электронная микроскопия	Изучение микроструктуры и морфологии агрегатов, выявление их микрогетерогенности	150
Компьютерная микротомография	Определение 3х-мерного распределения плотности вещества в агрегате	6
Гистологический анализ срезов камней (обработка раствором HgCl_2 -БФС)	Определение форм локализации белковых веществ в камнях	150
ВЖ и ИО хроматография	Анализ аминокислотного состава	150
Метод Бенедикта	Определение водорастворимых белковых соединений	180
Метод Кьельдаля	Определение содержания общего неминерального N	180
Атомный эмиссионный спектральный анализ с ИСП	Определение содержания до 45 элементов	350
Рентгенофлуоресцентный анализ с СИ	Определение содержания 40 элементов	350
Рентгеноспектральный микрозондовый анализ	Локальное определение в агрегате содержания Ca, Mg, Al, Na, P, Si, Sr, S, Cl, C, F, Fe, Ba, Mn, Ti	50
Газообменный анализ	Определение содержания CO_3^{2-}	50
Потенциометрический анализ	Определение содержания F^-	50

Таблица 2

Методы исследования биологических жидкостей и их прототипов

<i>Метод</i>	<i>Задачи</i>
ВЖ и ИО хроматография	Анализ аминокислотного состава
Метод Бенедикта	Определение водорастворимых белковых соединений
Метод Кьельдаля	Определение содержания общего неминерального N
Атомный эмиссионный спектральный анализ с	Определение содержания до 45 элементов

ИСП	
Спектрофотометрический анализ	Определение содержания PO_4^{3-} , желчных кислот, холестерина, фосфолипидов, билирубина
Потенциометрический анализ	Определение содержания F^- , Na^+ , K^+ , H^+
Титриметрический анализ	Определение содержания Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+ , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$
Вискозиметрия	Определение вязкости
Кристаллизация ротовой жидкости методом открытой капли	Исследование структуры картин кристаллизации ротовой жидкости
Метод холодово-осадочной пробы	Определение отношения желчи к нуклеации
Метод электрофореза	Определение электрокинетических свойств частиц золей
Кондуктометрический метод	Определение кинетических параметров роста кристаллов
Дисперсионный метод	Изучение распределения кристаллов по размерам

Основные особенности патогенного минералообразования в организме человека, выявленные в результате выполнения диссертационной работы.

1. При переходе в патогенное состояние концентрация основных неорганических компонентов в биологических жидкостях повышается, а содержание белковых и других органических составляющих может как увеличиваться (желчь), так и уменьшаться (смешанная слюна). В процессе камнеобразования состав физиологических растворов претерпевает существенные, часто периодические, изменения, что проявляется в многофазности камней, их микрогетерогенности, зональности и в переменном составе большинства патогенных биоминералов.

Особенности камнеобразующих сред выявляли на основе изучения параметров патогенных жидкостей и соответствующих ОМА.

Желчь как камнеобразующая среда. Проведено количественное определение основных органических компонентов операционной желчи жителей Омского региона и установлено, что концентрация главного компонента желчи – желчных кислот (стабилизаторов холестерина) для 25 % проб ниже нормы, для 12,5 % – в норме, для 62,5 % – выше нормы; концентрация холестерина, фосфолипидов и триглицеридов для всех проб выше нормы (для холестерина в среднем в 11 раз); содержание билирубина для 18,7 % проб ниже нормы, а для 81,3 % – повышено относительно нормы. Таким образом, состав патогенной желчи не соответствует норме. Для подтверждения литогенных свойств проанализированной желчи для всех проб различными способами были рассчитаны индексы литогенности (ИЛ), являющиеся критериями устойчивости желчи к коагуляции. Все значения ИЛ не соответствуют норме, что подтверждает патогенные свойства анализируемой желчи. Патогенность операционной желчи была также подтверждена с использованием диаграммы Адмирала-Смолла (рис. 1), которая отражает основной состав желчи. На диаграмме представлена теоретическая кривая максимальной и минимальной насыщенности

холестерина, характеризующая метастабильную зону. Полученные значения концентраций основных компонентов исследованной желчи для всех проб лежат выше кривой максимального растворения холестерина, то есть холестерин в такой желчи не может быть полностью стабилизирован. Таким образом, вся проанализированная желчь не устойчива, что способствует образованию камней.

Для оценки содержания белковой компоненты в исследуемых пробах операционной желчи было определено количество общего азота. Оказалось, что его содержание находится в диапазоне от 1,50 до 1,80 мас.%, что ~ в 3 раза превышает содержание азота в желчи здорового человека (0,48 масс.%). Увеличение доли общего азота вероятно, связано с возрастанием содержания в патогенной желчи не только аминокислот, но и таких азотсодержащих органических соединений, как билирубин и фосфолипиды. Содержание большинства неорганических компонент в патогенной желчи также повышено. Массовая доля натрия в 1,2 раза превышает его содержание в норме, фосфора и калия – в 1,5 раза, кальция – в 2,5 раза, магния – в 4,5 раза; содержание железа в 3,5 раза меньше нормы. Известно, что катионы кальция выполняют цементирующую роль в процессе нуклеации холестерина и преципитируют из желчи в виде карбонатов, пальмитатов и фосфатов. Таким образом, установленные отклонения элементного и вещественного состава патогенной желчи, по-видимому, приводят к нарушению её коллоидной структуры, что способствует коагуляции холестерина и образованию камней.



● – экспериментальные точки
H – норма (холестерин в растворе)

Рис. 1. Диаграмма устойчивости желчи



Рис.2. Зонально-слоистое строение холестеринового камня

Использование разработанной методики поэтапного экстракционного разделения компонентов желчных камней позволило кроме безводного холестерина $C_{27}H_{46}O$ обнаружить в исследуемых образцах следующие дополнительные фазы: карбонаты кальция $CaCO_3$ (фатерит, арагонит и кальцит), фосфат кальция витлокит $Ca_3(PO_4)_2$ и ряд органических соединений – билирубин ($C_{33}H_{36}O_6N_4$), натриевая соль желчной кислоты ($C_{21}H_{37}=CONHCH_2COONa$). В двух «черных камнях» холестерин практически отсутствует. Они состоят из билирубина и пальмитата кальция $C_{15}H_{31}COO)_2Ca$, то есть относятся к пигментным.

Для желчных камней характерно зонально-слоистое строение (рис. 2), которое чаще всего связано с вариациями фазового состава в пределах одно-

го камня (табл. 3), что указывает на изменения физико-химических характеристик камнеобразующей среды.

Таблица 3

Пример послойного распределения фаз в желчном камне

<i>Корка</i>	<i>Средняя зона</i>	<i>Центр</i>
Холестерин, незнач. фатерит	Холестерин, арагонит, фатерит	Холестерин, арагонит (следы)

В составе желчных камней идентифицировано более 36 элементов, доля которых колеблется в диапазоне от 10^{-5} до 2 масс.%. Процентное содержание элементов от общей их массы убывает в следующем порядке: Ca, K, Mn, Fe, Cu, Pb, Ti, Zn, V, Ni, Bi, Cr, Hg. Содержание кальция составляет 95 масс.%, затем следует калий (более 3 масс.%), замыкают ряд хром и ртуть, на долю которых приходится около 0,02 масс.%.

Таким образом, увеличение содержание кальция в патогенной желчи способствует образованию холиолитов, содержащих карбонаты кальция и билирубинат кальция, который является основной фазой пигментных камней.

Моча как камнеобразующая среда. В моче здорового человека идентифицировано более двух десятков неорганических и органических соединений. К патологическим компонентам мочи можно отнести глюкозу, белок, кетоновые тела, кровь. Кроме того, при образовании мочевых камней в физиологическом растворе повышается содержание неорганического фосфора (>75 ммоль\л), общего кальция (> 7 ммоль\л), магния (> 5 ммоль\л), щавелевой кислоты ($> 0,25$ ммоль\л) и мочевой кислоты (> 4 ммоль\л). При болезнях почек и ряде других заболеваний выделение белков с мочой возрастает. Среднесуточное значение pH мочи здорового человека лежит в области 5,5–6,5. Таким образом, моча – это сложный многокомпонентный раствор. Основными факторами, влияющими на процесс патогенного минералообразования в мочевой системе, являются химический состав и водородный показатель мочи.

В настоящее время в составе **мочевых камней** идентифицировано 29 минералов, из которых большинство являются солями кальция. В камнях исследуемой коллекции идентифицировано 11 соединений. Наиболее часто встречаются оксалаты: увеллит $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot (1+x) \text{H}_2\text{O}$ ($x \approx 0,00 - 0,07$) и уедделлит $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot (2+x)\text{H}_2\text{O}$, ($x \approx 0,13-0,37$); фосфаты: струвит $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, гидроксилapatит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, брушит $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и витлокит $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; ураты: урицит $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$, дигидрат мочевой кислоты $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, урат аммония $\text{C}_5\text{H}_2\text{O}_3\text{N}_4(\text{NH}_4)_2$. В 5 % образцов обнаружен редкий для почечных камней кварц SiO_2 , в одном камне (вместе с кварцем) впервые встречен силикат кальция хатрурит Ca_3SiO_5 . Частота встречаемости минералов в мочевых камнях различных регионов варьирует. Всегда преобладают оксалатные камни (45–75%), далее следуют фосфатная (20–40%) и уратная (10–20%) группы.

Большинство исследованных уролитов имеют слоистую, часто тонкоzonальную, структуру с чередованием как минеральных и органических слоев, так и слоев различного минерального состава. Слоистость удается наблюдать

на разных уровнях исследования, как при визуальном изучении срезов крупных камней (рис. 3), так и на электронномикроскопических снимках отдельных участков образцов (рис. 4).

Основные типы локализации органических веществ белковой природы: ядерная (в центре агрегата), прослоечная (концентрические и лучевые прослойки), диффузная (в виде вкраплений в кристаллы минералов). Как правило, в мочевых камнях фиксируются одновременно все типы локализации органического вещества с заметным преобладанием одного из них. Практически во всех исследованных уролитах методом сканирующей электронной микроскопии установлено проявление микрогетерогенности. В оксалатных и струвитных камнях (мономинеральных по данным РФА) выявлены зерна апатита (4-5 мкм); в фосфатных и уратных – обнаружены отдельные кристаллики уевеллита (размером 150–200 мкм). На основе вариаций параметров кристаллической решетки и данных локального микроанализа установлено, что оксалаты и фосфаты почечных камней характеризуются переменным нестехиометрическим составом, что отражает неравновесность и нестационарность условий их образования. Нестехиометрия составов оксалатов кальция (уевеллита и уедделлита) связана с переменным количеством воды в их структурах. Вариации составов струвитов и апатитов связаны с изоморфными замещениями во всех кристаллографических позициях. Основные примеси струвитов почечных камней (масс. %): Ca (0,36–1,89), Na (0,00–0,13), K (0,28–0,70), S (0,5–0,8). Основные примеси апатитов почечных камней (масс. %): – Na, Mg (0,5–0,8), K (0,3–0,4), S (0,5–0,8), Cl (0,07–0,3). Нестехиометрия струвита связана с переменной долей вакансий в позиции Mg, а апатита – в позиции Ca.

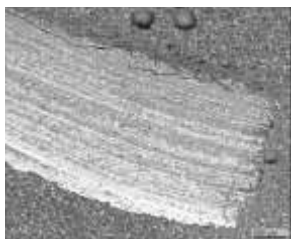


Рис. 3. Слоистая структура фосфатно-оксалатного почечного камня срез (увеличение 1,5 крат)

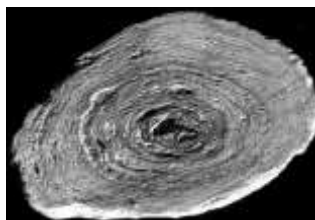


Рис. 4. Зональное распределение слоев струвита (темные) и апатита (белые) под электронным микроскопом

Неоднородное (часто зональное/микрizonaльное) строение мочевых камней проявляется и в распределении элементов. Например, увеличение количества апатита от центра к периферии сопровождается возрастанием как концентрации кальция, так и микроэлементов (Fe, Mg, Pb, Si, Mn, Al, Cu), которые могут изоморфно входить в структуру апатита (табл. 4).

**Пример зонального распределения элементов в мочевом камне
фосфатно-оксалатного типа**

Зона	Содержание элементов, масс.%								
	Fe	Mg	Pb	Si	Mn	Ca	Ti	Al	Cu
Ядро	0,006	3	0,006	0,004	0,004	22	–	0,0018	0,0016
Средняя	0,014	4,2	0,0047	0,001	0,0053	26	0,001	0,034	0,0021
Корка	0,026	6,6	0,011	0,029	0,049	38	0,0006	0,0028	0,0018

Результаты кластерного анализа показали, что почечные камни различного минерального состава – оксалатные, фосфатные и уратные отличаются по содержанию таких элементов как Ca, P, Mg, Na, K, S, F (более 0,1 масс.%), а также Sr, Zn, Ba, Cu, Br, Pb, Sb, Zr, Rb (менее 0,1 масс.%). Для камней смешанного фосфатно-оксалатного и уратно-оксалатного состава данная дифференциация носит размытый характер. Максимальное число микроэлементов (F, K, Sr, Zn, Ba, Zr, Sb, Rb) тяготеет к фосфатной группе, что можно объяснить их изоморфным вхождением в кристаллические структуры фосфатов, в первую очередь, гидроксилатапата.

Ротовая жидкость как камнеобразующая среда. Проведено количественное определение главных компонентов ротовой жидкости (смешанной слюны) 250 жителей Омска, относящихся к четырем группам (табл. 5) В ротовой полости членов трех испытуемых групп (кроме контрольной) присутствовали зубные камни. Достоверное изменение параметров слюны (по сравнению с контрольной группой) зафиксированы у лиц, принимающих лекарственные препараты и подверженных кариесу. В составе органической составляющей ротовой жидкости жителей города Омска определено 15 аминокислот; их среднее суммарное содержание составляет 0,34 масс.%. Кроме того, в ротовой полости всех пациентов, у которых присутствовали зубные камни, обнаружено повышенное содержание ряда элементов (конц. порядка 0,5 мг/л): Fe, Mn, Ni, Al, Zn и Cu.

Таблица 5

**Сравнительная характеристика электролитного состава
ротовой жидкости жителей Омска**

Показатель ротовой жидкости	Группа пациентов			
	Контрольная	Принимающая лекарственные препараты	Подверженная компьютерной нагрузке	Кариесподверженная
pH	6,80±0,11	7,04±0,02	6,75±0,35	6,59±0,09
C (Na ⁺), г/л	0,30±0,04	0,38±0,08	0,31±0,12	0,32±0,06
C (K ⁺), г/л	0,72±0,05	1,15±0,03	0,77±0,25	1,08±0,32
Общий Ca ²⁺ , г/л	0,051±0,004	0,057±0,005	0,049±0,013	0,05±0,01
Фосфор, г/л	0,16±0,01	0,20±0,02	0,15±0,05	0,19±0,05
Белок, мг/мл	1,73±0,24	1,33±0,06	1,69±0,07	1,68±0,75

Примечание. Приведенные доверительные интервалы соответствуют P = 0,95.

Выявлено различие картин микрокристаллизации слюны здоровых людей (контрольная группа) и лиц, длительное время работающих на компьютере и предложен способ оценки состояния ротовой полости человека после воздействия компьютерной нагрузки (патент № 2311639).

В составе исследованных зубных и слюнных камней обнаружены различные фосфаты кальция: апатит, брушит, октакальций фосфат $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, витлокит. Самым распространенным минералом является апатит. Как известно, минеральная компонента твердых тканей зуба (эмаль, дентин) представлена только апатитом. Таким образом, минеральный состав образующихся в полости рта патогенных образований (зубные и слюнные камни) более разнообразен, чем физиогенных. Вариации параметров кристаллической решетки апатитов слюнных и зубных камней также связаны с широким проявлением изоморфизма во всех кристаллографических позициях. Основные примеси апатитов слюнных и зубных камней (масс. %): – Na (0,4-1,0), Mg (0,5-3,7), K (0,02-0,3), S (0,4-1,0), Cl (0,02-0,2). Диапазон изменений параметров решетки апатитов слюнных и зубных камней более широк по сравнению с апатитами твердых тканей зуба, но существенно меньше, чем у апатитов мочевых камней (рис. 5).

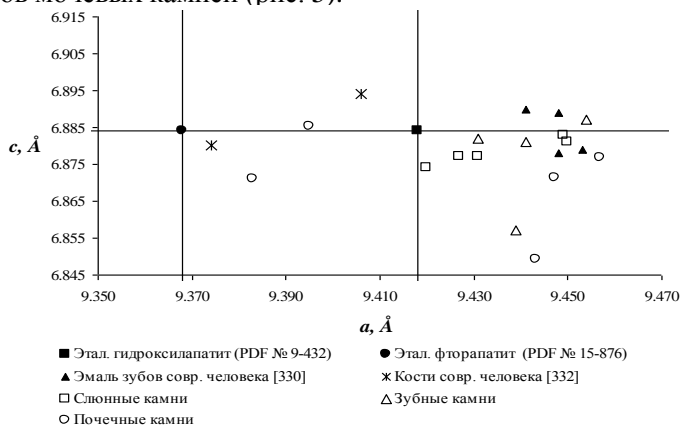


Рис. 5. Параметры элементарной ячейки апатитов, образующихся в организме человека. Погрешности определения значений a и c не превышают: 0.001 (эмаль зубов), 0.003 и 0.002 (слюнные и зубные камни), 0.004 и 0.003 (почечные камни), 0.006 и 0.003 (кости) Å, соответственно

Следовательно, химический состав и pH ротовой жидкости изменяются в более узком диапазоне, по сравнению с мочой. Различные диапазоны изменений параметров кристаллической решетки физиогенных и патогенных биоapatитов отражают тот факт, что механизм образования твердых тканей зуба полностью контролируется организмом, а формирование ОМА вызвано аномальными изменениями параметров камнеобразующей сред.

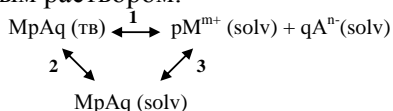
Для зубных и слюнных камней также характерно концентрически-слоистое строение, проявляющее на разных уровнях (см. рис. 13). Обычно слои неорганического вещества разделяются более тонкими слоями органи-

ческого вещества. Установлено, что большинство исследованных камней имеют один центр, от которого происходило их разрастание, встречаются также камни с несколькими центрами (ядрами), вокруг которых формируются концентрические слои. Показано, что общее содержание аминокислот в саливолитах и дентолитах по сравнению с патогенной ротовой жидкостью значительно увеличено. Ряд средних концентраций (масс.%) химических элементов в зубных камнях ($Zn > Fe > Cu > Ni > Mn$) практически совпадает с соответствующим рядом для ротовой жидкости. Это указывает на то, что аминокислоты, легко образующие комплексы с данными тяжелыми металлами, извлекаются из общего кругооборота аминокислот. При этом происходит нарушение связи ионов кальция с белковыми коллоидами, находящимися в слюне, в результате чего освободившиеся ионы кальция связываются с фосфат-ионами, что приводит к образованию нерастворимых фосфатов кальция, являющихся основными компонентами зубных и слюнных камней.

2. Патогенное фазообразование в организме человека крайне неравновесно, что доказано термодинамическими расчетами и модельными экспериментами. Широкая распространенность одноводного оксалата кальция (уевеллита) и основного фосфата кальция (апатита) связана с высоким пересыщением биологического раствора относительно этих фаз. Величина pH раствора оказывает более существенное влияние на фазообразование, чем варьирование начальных концентраций компонентов. Наибольшая стабильность апатита, связанная с более широким интервалом условий его образования, объясняет его встречаемость практически во всех мочевых, зубных и слюнных камнях.

Закономерности патогенного фазообразования выявляли путем сопоставления результатов термодинамических расчетов, экспериментов в прототипах биологических жидкостей и изучения фазового состава ОМА.

Термодинамический расчет. Расчет констант равновесий в системе осадок-раствор проводили по упрощенной схеме равновесия между осадком $MrAq$ и его насыщенным раствором:



В качестве прототипов биологических жидкостей использовали гипотетические растворы, ионный состав которых (неорганические макрокомпоненты), температура и pH близки к моче (Тиктинский, 2000) и ротовой жидкости (Денисов, 2003) человека.

Термодинамический алгоритм позволяет рассчитать фазовые равновесия в многокомпонентных системах и количественно оценить физико-химические параметры кристаллизации. Для проведения расчета были использованы значения термодинамических произведений растворимости K_s^0 25-ти малорастворимых соединений, которые могут образоваться в исследуемых гипотетических растворах (моча, ротовая жидкость и жидкость зубного налета), при этом ионную силу раствора в исследуемом диапазоне pH

считали постоянной и равной среднему значению диапазона, рассчитанного для каждой изучаемой биологической системы.

Для оценки возможности образования малорастворимого соединения использовали рассчитанные значения индексов пересыщения SI; (количественно) пересыщение (S), создаваемое в растворе относительно малорасстворимого соединения ($M_{p+}A_{q-}$), рассчитывали по уравнениям:

$$S = \left[\frac{(a_{M^{m+}})_s^{p+} \cdot (a_{A^{q-}})_s^{q-}}{(a_{M^{m+}})_\infty^{p+} \cdot (a_{A^{q-}})_\infty^{q-}} \right]^{\frac{1}{p_+ + q_-}} = \left(\frac{IAP}{K_s^0} \right)^{\frac{1}{p_+ + q_-}}, \quad SI = \lg(S) \quad (1),$$

где IAP – ионное произведение активностей.

Для определения областей устойчивости малорастворимых фаз мочевых, зубных и слюнных камней был проведен расчет с использованием программы «Gflow3» (версия 3.1). Алгоритм расчета равновесий использует принцип минимизации свободной энергии Гиббса системы. Неидеальность водной фазы рассчитывается по уравнению Дебая-Хюккеля в 3-м приближении. Твердые фазы задаются, как фазы постоянного состава. По полученным данным о составе равновесного раствора строятся кривые насыщения для всех компонентов системы в координатах «рН – lg m». На диаграммах полученных в результате расчетов приняты следующие обозначения: 1 – увеллит; 2 – увеллит, брушит; 3 – брушит, гидроксилapatит; 4 – гидроксилapatит; 5 – увеллит, гидроксилapatит; 6 – брушит; 7 – октакальций фосфат; 8 – карбонат гидроксилapatит; 9 – карбонатгидроксилapatит, брушит, октакальций фосфат; 10 – ньюберит; 11 – брусит; 12 – брушит, ньюберит; 13 – брушит, ньюберит, магнезит; 14 – брушит, ньюберит, магнезит, карбонатгидроксилapatит; 15 – ньюберит, магнезит, карбонатгидроксилapatит; 16 – магнезит, карбонатгидроксилapatит.

Методика экспериментов. Для верификации результатов термодинамических расчетов была проведена серия экспериментов по фазообразованию в прототипах биологических жидкостей (моча, ротовая жидкость, жидкость зубного налета). Ионный состав (неорганические макрокомпоненты), температура, ионная сила и рН использованных растворов соответствовали средам в организме человека. Синтез патогенных фаз методом осаждения включал три серии опытов, отличающихся начальными концентрациями исходных компонентов. В каждой серии изучали поведение системы при температуре 37.0±0.5 °С и значениях рН, соответствующих средней и близкой к максимально возможной величинам (рН – 6,45 и 7,45). Для установления фазового состава синтезированного материала применяли РФА, ИК-спектроскопию и методы химического анализа.

Мочевые камни. Исходя из полученных индексов пересыщения установлено, что в исследуемых растворах *термодинамически* вероятно образование следующих фаз: брушит $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; витлокит $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; гидроксилapatит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; увеллит $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; уедделлит $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; коаксит $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; кальцит CaCO_3 ; ньюберит $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, и струвит $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Из перечисленного выше ряда соединений во всем изучаемом диапазоне pH = 4,5–8,0 возможно образование только оксалатов кальция различной степени гидратированности, при этом $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (уевеллит) является наиболее стабильной модификацией, что подтверждается экспериментальными данными по кристаллизации оксалатов при pH = 4,8–7,0. В растворах с pH 4,5–5,6 осаждение малорастворимых фосфатов кальция и магния термодинамически невозможно. Этот факт подтверждают данные эксперимента, указывающие на то, что образование гидроксилатапата протекает в растворе, значение pH которого сдвинуто в щелочную сторону (pH = 6,5–7,8). Сопоставляя индексы пересыщения, рассчитанные для фосфатов кальция различного стехиометрического состава (при pH 5,2–8,0), можно утверждать, что наибольшая степень пересыщения имеет место для гидроксилатапата. При pH < 6,5 по убыванию значений SI анализируемые фосфаты кальция можно ранжировать в ряд: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$. При pH > 7,5 последовательность имеет вид: $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Фосфаты магния (например, струвит) могут образовываться в исследуемых растворах только при pH > 6,0.

При определении областей устойчивости малорастворимых фаз мочевых камней по программе «Gbflow3» получены следующие результаты.

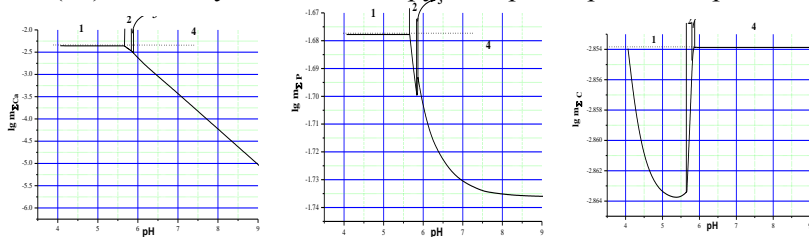
Система « $\text{Ca}^{2+} - \text{PO}_4^{3-} - \text{C}_2\text{O}_4^{2-} - \text{H}_2\text{O}$ ».

Расчет по модели осаждения (рис. 6а) показал, что раствор пересыщен относительно уевеллита в области pH от 4,1 до 5,7. В диапазоне 5,7 – 5,9 устойчивы парагенезисы «уевеллит – брушит» и «брушит – гидроксилатапит». При больших значениях pH устойчивым является только гидроксилатапит.

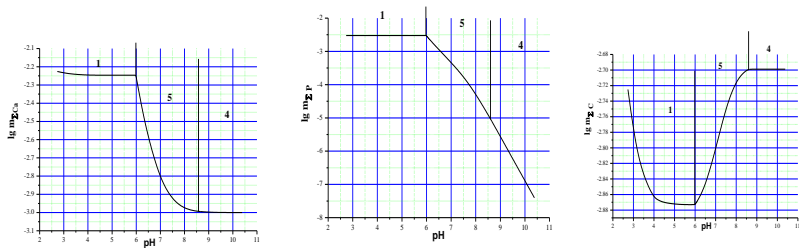
При моделировании растворения эквимольной смеси уевеллита и гидроксилатапата (рис. 6б) выявлено, что гидроксилатапит растворяется при pH < 6,0, а уевеллит при pH > 8,5. Таким образом, диапазон их совместного существования совпадает с областью значений pH «нормальной» мочи человека, что объясняет частую встречаемость этого парагенезиса в составе мочевых камней.

Системы « $\text{Ca}^{2+} - \text{PO}_4^{3-} - \text{H}_2\text{O}$ » и « $\text{Ca}^{2+} - \text{PO}_4^{3-} - \text{CO}_3^{2-} - \text{H}_2\text{O}$ »

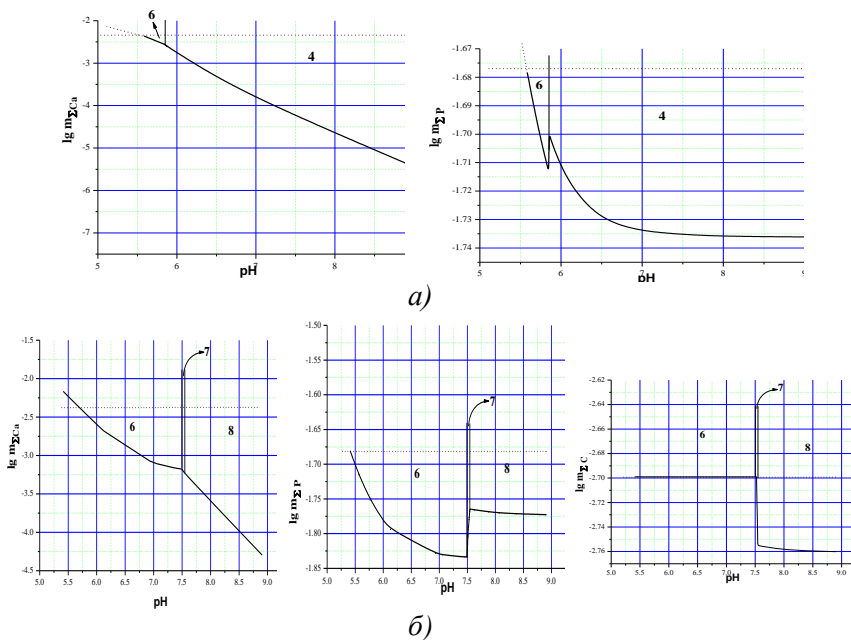
Моделирование осаждения в системе « $\text{Ca}^{2+} - \text{PO}_4^{3-} - \text{H}_2\text{O}$ » (рис. 7а) показало, что брушит устойчив только при pH 5,6 – 5,8. Повышение pH приводит к переходу брушита в гидроксилатапит. В системе « $\text{Ca}^{2+} - \text{PO}_4^{3-} - \text{CO}_3^{2-} - \text{H}_2\text{O}$ » (7б) область устойчивости брушита расширяется до pH 7,5.



a)



б)
 Рис. 6. Диаграмма pH- $\lg m_i$ системы « $Ca^{2+} - PO_4^{3-} - C_2O_4^{2-} - H_2O$ »: осаджение (а); растворение (б)



б)
 Рис. 7. Диаграмма pH- $\lg m_i$ систем: « $Ca^{2+} - PO_4^{3-} - H_2O$ » (а); « $Ca^{2+} - PO_4^{3-} - CO_3^{2-} - H_2O$ » (б)

В узком диапазоне 7,5–7,6 устойчив октакальцийфосфат, который в составе почечных камней встречается крайне редко. Дальнейшее повышение pH приводит к образованию карбонатгидроксилапатита.

Результаты *модельного эксперимента* показали, что гидроксилапатит в следовых количествах был получен практически во всех опытах. Основными же фазами в выделенных осадках были брусит и аморфный фосфат кальция. Исходя из термодинамических расчетов, эти фазы в условиях эксперимента являются метастабильными, т. е. равновесие относительно гидроксилапатита достигнуто не было. В целом, полученные результаты хорошо объясняют ши-

рокую распространенность гидроксилapatита, который присутствует практически во всех почечных камнях человека, хотя часто в незначительных количествах. По данным термодинамических расчетов в системе «Ca²⁺ – PO₄³⁻ – C₂O₄²⁻ – H₂O» (рис. 7) при значениях pH = 6,5 и 7,5 устойчив гидроксилapatит, что согласуется с результатами эксперимента.

В целом, результаты теоретического и экспериментального моделирования образования основных минеральных фаз почечных камней хорошо согласуются и дополняют друг с друга. По данным термодинамических расчетов биологический раствор пересыщен относительно основных фаз почечных камней (уевеллита и гидроксилapatита). То, что мочекаменная болезнь проявляется у ограниченного числа людей можно объяснить стабилизацией раствора соединениями белковой природы и аминокислотами.

Зубные и слюнные камни. По результатам *термодинамического* расчета для смешанной слюны по убыванию значений SI исследуемые фосфаты кальция при pH < 6,5 можно ранжировать в следующий ряд: Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ > β-Ca₃(PO₄)₂ > CaHPO₄·2H₂O > Ca₄H(PO₄)₃·2,5H₂O; при pH > 7 последовательность имеет следующий вид: Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ > β-Ca₃(PO₄)₂ > Ca₄H(PO₄)₃·2,5H₂O > CaHPO₄·2H₂O. Для жидкости зубного налета были выявлены аналогичные закономерности, однако значения pH, при которых возможно осаждение фаз зубных камней, сдвинуто в более кислую область.

Построение диаграмм устойчивости для системы «Ca²⁺ – Mg²⁺ – PO₄³⁻ – CO₃²⁻ – H₂O» (рис. 8) показало, что в диапазоне pH 4,5–6 устойчивым является брусит, далее при увеличении pH наряду с бруситом появляется ньюберит, который редко встречается в составе слюнных и зубных камней. Дальнейший сдвиг pH в щелочную область > 7,5 способствует появлению магнезита и карбонатапатита, с преобладанием последнего.

Таким образом, в условиях характерных для образования зубных и слюнных камней брусит является термодинамически неравновесной фазой по отношению к гидроксилapatиту. Это свидетельствует о том, что его образование на начальной стадии формирования данных ОМА контролируется, в основном, кинетическими факторами, а последующая трансформация в гидроксилapatит обусловлена стремлением системы к термодинамическому равновесию.

В результате *модельных экспериментов* были получены аналоги следующих минералов зубных и слюнных камней: брусита, струвита, апатита, а также рентгеноаморфный фосфат кальция. Во всех опытах в осадках преобладал брусит, а содержание плохо окристаллизованного апатита увеличивалось по мере увеличения pH раствора. Сопоставление результатов термодинамического расчета и моделирования между собой и с минеральным составом зубных и слюнных камней свидетельствует о том, что брусит, октакальций фосфат и витлокит являются метастабильными фазами.

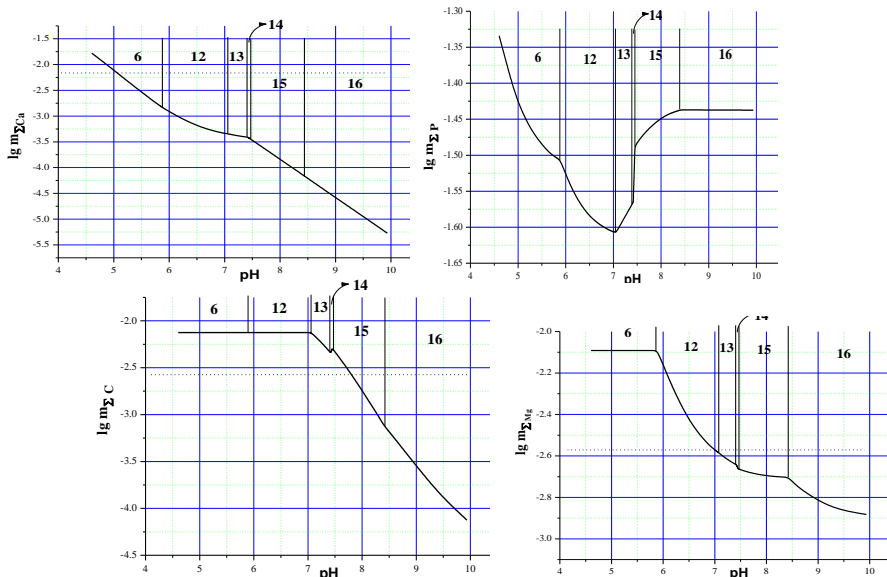


Рис. 8. Диаграмма pH- $\lg m_i$ системы: « $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{PO}_4^{3-} - \text{CO}_3^{2-} - \text{H}_2\text{O}$ »

В целом, результаты термодинамических расчетов и моделирования показали, что неравновесные процессы играют решающую роль при образовании кристаллических фаз мочевых, зубных и слюнных камней. При этом гидроксилapatит является наиболее термодинамически стабильной фазой этих агрегатов, что подтверждает его особую роль при их образовании.

3. Для камней, минеральная компонента которых состоит из органических соединений (оксалатные и мочекислые уrolиты; холестеринoвые холелиты), характерна сферолитовая структура и прямой рост фаз из пересыщенных растворов. Для фосфатных камней (фосфатные уrolиты, дентолиты и саливолиты) характерно зернистое скрытокристаллическое строение и образование путем осаждения вещества (седиментации). Неорганические примеси камнеобразующей среды (компоненты фонового электролита, катионы магния и др.) ингибируют кристаллизацию минералов почечных камней. Присутствие в моче кристаллов гидроксилapatита, напротив, инициирует процесс кристаллизации уевеллита. Кинетика нуклеации малорастворимых соединений почечных, зубных и слюнных камней может быть описана уравнением Фоккера-Планка.

Закономерности кристаллизации основных фаз мочевых, желчных, зубных и слюнных камней изучали путем анализа их онтогении и моделирования в прототипах биологических жидкостей.

Онтогенетические закономерности. Изучение структурно-текстурных особенностей исследуемых *патогенных агрегатов* показало, что их образование протекает стадийно. Характерной особенностью многих мочевых, зуб-

ных и слюнных камней являются перерывы в процессе их роста. Нередко отмечается растворение образовавшихся ранее слоев, в результате чего вновь возникающие слои перекрывают несколько зон «с несогласием». Применение метода рентгеновской компьютерной микротомографии позволило выявить скрытые плотностные аномалии – понижения плотности, которые также указывают на изменения обстановки формирования уролитов, дентолитов и саливолитов. В целом, полученные данные свидетельствует об очень сложных переменных условиях камнеобразования, когда рост камней неоднократно сменялся их растворением. *Уролиты* исследуемой коллекции, состоящие из уевеллита, уедделита (рис. 9) или уриката (рис. 10), имеют, как правило, сферолитовое или дендритное строение. Развитие сферолитов происходит вследствие интенсивного расщепления кристаллов; сферолиты часто сложены одним минералом. *Сферолитовая структура* агрегатов свидетельствует о прямой кристаллизации компонентов камня с зарождением на иницирующих центрах. При этом возможна кристаллизация метастабильной фазы (уедделлита), с последующим её замещением на уевеллит. При изучении шлифов выявляется изменение интенсивности отложения вещества при росте сферолитовых агрегатов с повторными зарождениями сферолитов. Границы роста в местах соприкосновения сферолитов формируют сложную систему пустот (кавернозность агрегатов). *Зернистая структура* фосфатных камней (уролитов, дентолитов и саливолитов), указывает на то, что формирование этих ОМА обусловлено в основном седиментацией и агломерацией мелкозернистого или аморфного материала (рис. 11–13). Собственно кристаллизация в этом случае имеет подчиненное значение, участвуя в формировании второстепенных минералов с более высокой растворимостью (оксалаты, струвит и брушит). Характерные для уролитов камни смешанного типа имеют слоистое строение, в котором чередуются зернистые и сферолитовые агрегаты. Такие камни образуются в наиболее неравновесных условиях в результате чередования процессов кристаллизации и седиментации. Слоистое строение в камнях сферолитового типа фиксируется более четко, чем в зернистых камнях. В целом, выявленные закономерности онтогении мочевых, слюнных и зубных камней хорошо согласуются между собой и дополняют полученные ранее по уролитам результаты А.К. Полиенко, В. И. Катковой, Ф.В. Зузуком и др.

Большинство *желчных камней* являются концентрически-зональными сферолитами. Они имеют периферическую тонкослоистую оболочку и более грубую зональность в центральных и промежуточных областях. Во многих желчных камнях такого строения наблюдаются радиальные трещины (рис. 14), часто расположенные по отношению друг к другу под углом 120° . Эти трещины (обычно они открыты и ничем не заполнены) не выходят за пределы центральной области. В тонкослоистой оболочке трещины не фиксируются. Возникновение трещин, вероятно, связано с уменьшением объема и «усыханием» камня, что можно объяснить переходом одноводного холестерина в безводный. Это явление часто наблюдается при длительном хранении образцов. Обмен веществ и периодическая выработка желчи способствуют формированию концентрических зон различной окраски. Сферолитовое

строение холестериновых камней с радиальной, крупнокристаллической, веероподобной структурой указывает на их формирование из истинных растворов. При этом зональное распределение окраски камня дает основание полагать, что один и тот же камень может поочередно формироваться как из истинного раствора желчи, так и из коллоидного, обогащенного билирубином. Можно предположить, что желчь в пузыре периодически переходит из состояния истинного раствора в коллоидное.

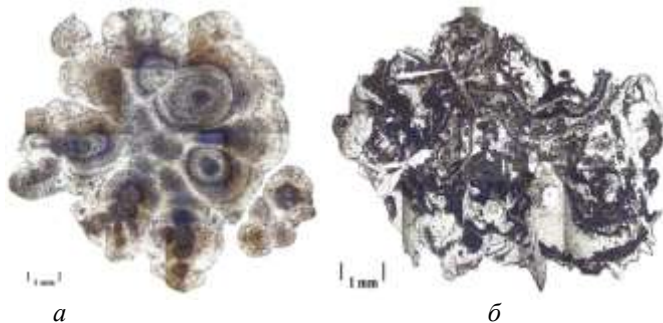


Рис. 9. Микрофотографии илифов оксалатных мочевых камней: а) сферолиты уевеллита ~100%; б) дендриты уеделлита ~ 100%

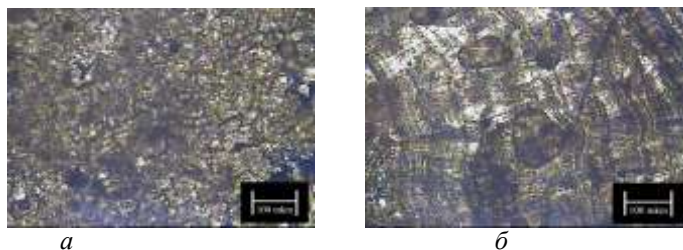


Рис. 10. Микрофотографии илифов уратных мочевых камней: мелкие кристаллы (а) и сферолиты (б) урикита

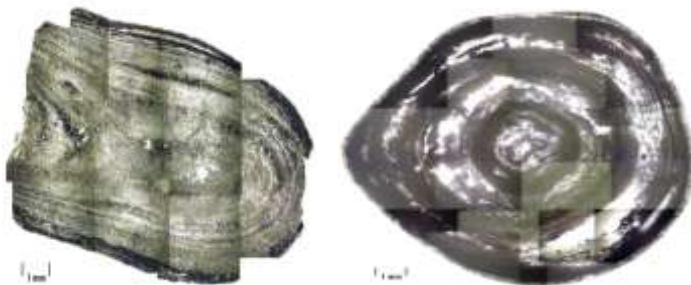


Рис. 11. Микрофотографии илифов зональных фосфатных мочевых камней с чередованием слоев: апатит-органическое вещество (а), апатит-витлокит (б)

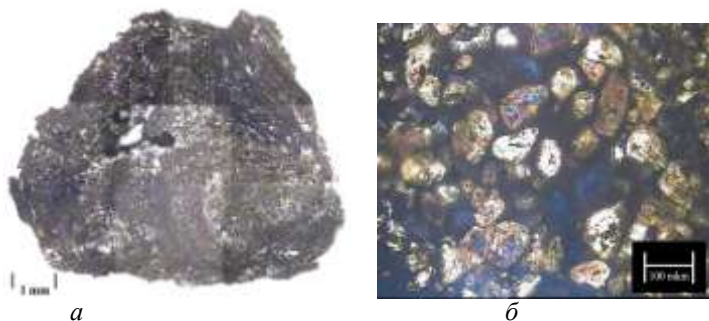


Рис. 12. Микрофотографии шлифов струвит-апатитовых мочевого камня: а) зернистая структура; б) кристаллы струвита в апатитовой матрице

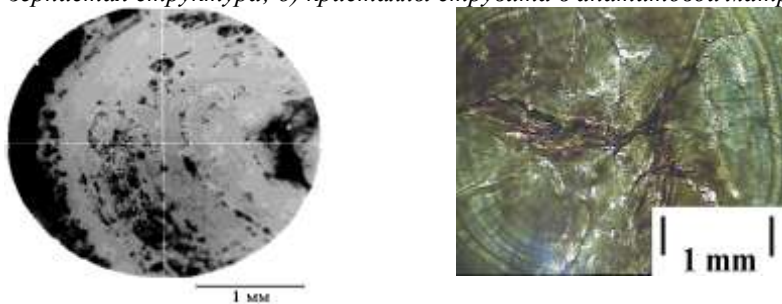


Рис. 13. Микрофотография шлифа слюнного камня с чередованием слоев: апатит-органическое вещество (негативное изображение)

Рис. 14. Микрофотография шлифа концентрически-слоистого холестерина желчного камня с трещинами усыхания

Синтез и кристаллизация одноводного оксалата кальция (увеллита). Синтез одноводного оксалата кальция из водных растворов в условиях, приближенных к физиологическим (рН=4,5; 6,0; 7,5; ионная сила – 0,3) показал, что на образование данной фазы не влияют такие факторы, как рН раствора, температура и введение в систему неорганических и органических добавок, характерных для физиологического раствора (табл. 6).

Таблица 6

Добавки, использованные при синтезе увеллита

Добавка	Количество, ммоль/л
Карбонат-ион	50,0
Сульфат-ион	95,0
Гидрофосфат-ион	60,0
Глутаминовая к-а	10,0
Пролин	10,0
Глицин	10,0

Путем определения *периодов индукции* – времени образования первых кристаллов в растворах без добавок изучено влияние пересыщения на зародышеобразование. Время индукции обратно пропорционально скорости зародышеобразования, которая в свою очередь выражается экспоненциальной функцией пересыщения, включающей в качестве параметра поверхностную энергию (σ) на гра-

нице «кристалл-раствор»: $J \sim (\exp(-16\pi\sigma^3 v^2 / 3k^3 T^3 (m \ln \gamma)^2))$, где v – объем молекулы, см^3 ; k – константа Больцмана; T – температура, K ; m – число ионов диссоциации оксалата кальция. В соответствии с данным уравнением $\ln \tau$ должен линейно зависеть от $\ln \gamma^2$. График такой зависимости разбивается на две части с разным наклоном при больших и меньших пересыщениях. Определенные по величине наклона значения поверхностной энергии в интервалах пересыщений 5–15 и 15–25 составляют, соответственно, 36,4 и 20,7 кДж/м^2 . Такое поведение времени индукции обычно трактуется как переход от гетерогенного зарождения при малых пересыщениях к гомогенному при больших. При этом меньшее значение поверхностной энергии является «эффективным», отражающим адгезию зародыша на активном центре.

Из полученных кондуктометрическим методом кинетических кривых следует монотонное увеличение степени полноты протекания кристаллизации увеличивая во времени ($\alpha = (C_0 - C_t) / (C_0 - C_s)$, C_0 – концентрация вещества в пересыщенном растворе, C_s – его растворимость) (рис. 15). При этом процесс постепенно замедляется (кривые выполаживаются) вследствие сброса пересыщения в ходе кристаллизации. Характерно, что уже при небольших значениях α процесс практически прекращается. Однако, между конечными значениями α для разных пересыщений (5, 7, 10) с вероятностью $P = 0,95$ отличий не обнаружено (в трех параллельных опытах каждой серии значение α колеблется от 0,26 до 0,29). Кристаллизация в разных сериях опытов прекращается при разных пересыщениях – тем больших, чем выше значение начального пересыщения. Полученные закономерности можно объяснить проявлением вторичных процессов (агрегацией, перекристаллизацией частиц, примесным отравлением и т. д.), независящих от начального пересыщения. Изучение влияния ионной силы среды на кристаллизацию одноводного оксалата кальция показало, что при ионной силе, равной 0,3 (соответствующей физиологическому раствору), кристаллизация в растворе с пересыщением $\gamma = 7$ не происходит и начинается лишь при увеличении пересыщения до $\gamma = 10$. Полученные результаты можно объяснить тем, что в растворах с большой ионной силой велико влияние электростатических сил отталкивания, действующих между одноименными ионами, что сказывается на снижении способности катионов кальция и оксалат-анионов к химическим взаимодействиям, а, следовательно, и к образованию зародышей.

Эксперименты по изучению роли катионов магния при кристаллизации моногидрата оксалата кальция также выявили их сильное ингибирующее действие. Дисперсионный анализ показал, что при добавлении в раствор, имеющий пересыщение $\gamma = 7$, катионов магния в концентрации $C = 10^{-3}$ моль/л средний

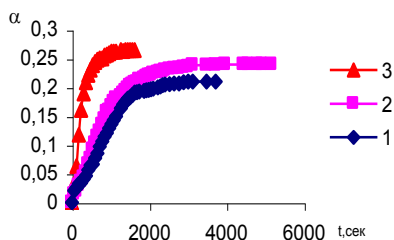


Рис. 15. Степень полноты кристаллизации одноводного оксалата кальция при пересыщениях:
 $1 - \gamma = 5$, $2 - \gamma = 7$, $3 - \gamma = 10$

размер кристаллов уменьшается в 2,5 раза, т. е. происходит очень сильное торможение их роста. Увеличение концентрации катионов магния до $C_{Mg} = 10^{-2}$ моль/л (физиологическая концентрация) приводит к усилению ингибирующего эффекта, кристаллизация увеллита при данном пересыщении ($\gamma = 7$) вообще не происходит. Образование кристаллов данной фазы при физиологической концентрации катионов магния в растворе начинается лишь при увеличении пересыщения до $\gamma = 20$. Таким образом, присутствие ионов магния оказывает существенно больший ингибирующий эффект на кристаллизацию увеллита, чем ионная сила. При внесении кристаллов гидроксилapatита (размером $4,29 \pm 0,06$ мкм) в раствор оксалата кальция ($\gamma = 7$, рН = 6,5) средний размер кристаллов моногидрата оксалата кальция существенно возрастает: от $6,38 \pm 0,19$ мкм в растворе без добавок до $14,14 \pm 0,29$ мкм.

Таким образом, присутствие в растворе кристаллов гидроксилapatита инициирует процесс кристаллизации моногидрата оксалата кальция. Повидимому, кристаллы апатита могут выступать в качестве зародышей гетерогенной нуклеации увеллита.

Синтез и кристаллизация основного фосфата кальция (гидроксилapatита). Синтез гидроксилapatита из растворов, моделирующих биологическую жидкость (рН = 4,5; 6,0; 7,5; ионная сила – 0,3) в присутствии оксалатионов (0,23 ммоль/л) и других добавок, являющихся компонентами биологического раствора (табл. 6) показал, что увеличение концентрации катионов магния (выше 8,2 ммоль/л) приводит к образованию струвита; избыток карбонат-ионов (выше 50 ммоль/л) – к осаждению кальцита; присутствие оксалатионов и аминокислот не влияет на фазовый состав полученного осадка.

Изучение электрокинетических свойств синтезированных гидроксилapatитов (знака заряда, электрофоретической подвижности и ξ -потенциала) показало (табл. 7), что заряд и значение ξ -потенциала частиц гидроксилapatита зависит от его стехиометрии (атомного соотношения Са/Р), при этом наблюдается закономерное смещение ξ -потенциала частиц в положительную область при приближении данного соотношения к стехиометрическому (1,67). Эту закономерность можно объяснить, исходя из неполной компенсации зарядов в нестехиометрических гидроксилapatитах $Ca_{10-x}(PO_4)_{6-x}(HPO_4)_x[OH_{2-x}(H_2O)_x]$. Возможно также, что отрицательный заряд поверхности частиц обусловлен частичной диссоциацией в растворе поверхностных гидрофосфатных групп с отщеплением иона водорода. Положительный заряд частиц гидроксилapatита со стехиометрическим соотношением Са/Р также можно объяснить неполной компенсацией положительного заряда при уменьшении дефицита кальция в структуре. Однако, возможно, это связано с адсорбцией на поверхности частиц ионов Ca^{2+} , находящихся в растворе в избытке. Последнее предположение согласуется с правилом Фаянса-Панета, согласно которому потенциалопределяющими ионами в мицеллах, существующих в растворах, являются ионы, входящие в состав частиц. Дисперсионный анализ показал, что по мере увеличения соотношения Са/Р в твердой фазе и соответственно в исходном растворе, из которого осуществлялся синтез, происходит увеличение среднего диаметра частиц гидроксилapatита (от 17,30 мкм до 28,35 мкм).

Таблица 7

**Электрокинетические свойства частиц золя гидроксилпатитов
с различным соотношением Са/Р в присутствии аминокислот
(I = 0,3, рН = 6,5, Сак = 0,004 М)**

Атомное соотношение Са/Р	Аминокислота	Знак заряда частиц	Электрофоретическая подвижность, см	ξ-потенциал, мВ
1,58±0,01	–	–	$2,1 \cdot 10^{-4}$	-28,6
	Глицин (Gly)	+	$1,2 \cdot 10^{-4}$	+16,3
	Аспарагиновая (Asp)	–	$1,0 \cdot 10^{-4}$	-22,2
	Глутаминовая (Glu)	–	$1,6 \cdot 10^{-4}$	-13,8
	Лизин (Lys)	+	$2,1 \cdot 10^{-4}$	+28,3
1,65±0,01	–	–	$5,9 \cdot 10^{-5}$	-8,0
1,67±0,01	–	+	$5,4 \cdot 10^{-5}$	+7,4
	Глицин (Gly)	–	$8,7 \cdot 10^{-5}$	-11,7
	Аспарагиновая (Asp)	–	$1,2 \cdot 10^{-4}$	-17,0
	Глутаминовая (Glu)	–	$1,2 \cdot 10^{-4}$	-16,5
	Лизин (Lys)	+	$5,4 \cdot 10^{-5}$	+7,2

При этом при последовательном переходе к более высоким значениям соотношения Са/Р увеличивается степень бимодальности кривой распределения, что можно связать с возрастанием агрегации частиц. Это, в свою очередь, может быть объяснено уменьшением заряда частиц полученных золей (табл. 8), в результате чего происходит уменьшение сил электростатического отталкивания между частицами, приводящее к увеличению степени их агрегации.

Таблица 8

**Результаты дисперсионного анализа среднего размера частиц
синтезированных гидроксилпатитов в присутствии аминокислот
(t = 37,0 ± 0,5 °С; рН = 7,5 ± 0,1; С = 0,004 моль/л)**

№ п/п	Аминокислота	Средний диаметр частиц D, мкм								
		Са/Р _{мс} = 1,58±0,01			Са/Р _{мс} = 1,65±0,01			Са/Р _{мс} = 1,67±0,01		
		D, мкм	Δ %	Sr	D, мкм	Δ %	Sr	D, мкм	Δ %	Sr
1	- (0)	17,30	0,0	0,02–0,03	22,54	0	0,02–0,03	28,35	0,0	0,02–0,03
2	Глицин (Gly)	16,94	-2,1		19,32	-14,3		32,10	+13,2	
3	Аспарагиновая (Asp)	15,62	-9,5		17,49	-22,4		18,20	-35,8	
4	Глутаминовая (Glu)	14,65	-15,3		17,81	-21,0		21,10	-25,6	
5	Лизин (Lys)	12,35	-28,6		16,54	-26,6		21,93	-22,7	

Именно на агрегации частиц и основан «седиментационный» механизм формирования фосфатных камней.

Математическое моделирование нуклеации малорастворимых соединений. Для описания процесса нуклеации оксалатов и фосфатов почечных камней предложена математическая модель, основанная на изменении функции φ распределения кристаллов по размеру L во времени t , которое описывается уравнением Фоккера – Планка (А.Н. Колмогоров, 1986):

$$\frac{\partial \varphi}{\partial t} = -\frac{\partial(\varphi G)}{\partial L} + \frac{\partial}{\partial L} \left(p \frac{\partial(\varphi G)}{\partial L} \right), \quad (2)$$

где G – линейная скорость роста грани кристалла параллельно самой себе, p – коэффициент флуктуации скорости роста. Температуру и концентрацию считали постоянными во всем объеме раствора. При этом принимали, что $L \geq L_0$, где L_0 – минимально возможный размер кристалла.

Использование этой модели позволило воспроизвести периодичность работы почки (опорожнение и наполнение). Было установлено, что увеличение среднего размера образующихся кристаллов пропорционально квадратному корню от числа итераций. Сравнение расчетных параметров кристаллизации фосфатов и оксалатов кальция (распределение образующихся кристаллов по размерам и во времени), с экспериментальными данными показало, что разработанная модель достаточно адекватно описывает процесс нуклеации малорастворимых соединений.

4. Белковая компонента (прежде всего аминокислоты) активно участвует в образовании кристаллических фаз мочевых, зубных и слюнных камней. Существует селективное соответствие между основной минеральной компонентой мочевых камней (оксалатной, фосфатной, уратной) и набором аминокислот. Имеет место адсорбционное ингибирование аминокислотами кристаллизации увеллита и гидроксилатапата, зависящее от природы кислоты и её концентрации, а в случае гидроксилатапата также от степени нестехиометричности его состава. Ингибирующий эффект аминокислот сопоставим с воздействием компонент фонового электролита, но меньше, чем тормозящее влияние катионов магния.

Роль белковой компоненты в патогенном минералообразовании в организме человека изучали путем поиска связей между органической и минеральной компонентами ОМА и проведения экспериментов по влиянию аминокислот на кристаллизацию основных фаз уролитов (увеллита и гидроксилатапата).

Связи между органической и минеральной компонентами ОМА. По полученным данным (использована оригинальная методика отделения белковой компоненты) среднее содержание водорастворимых органических веществ с пептидной связью варьирует в уролитах в зависимости от их минерального состава и составляет 1,4–3,8 масс. %. Данные органические соединения в уратных, уратно-оксалатных, фосфатных и фосфатно-оксалатных почечных камнях представлены простыми белками, а в оксалатных камнях – простыми белками и гликопротеинами. Суммарное содержание аминокислот

в мочевых камнях составляет 0,610–2,228 масс. % и зависит от их минерального состава. Различные по минеральному составу уrolиты по содержанию аминокислот можно ранжировать в следующий ряд: **уратные > уратно-оксалатные > фосфатные > фосфатно-оксалатные > оксалатные**. Кроме того, для уrolитов различного минерального состава выявлены достоверные отличия средних содержаний ряда аминокислот. Кластерный анализ выявил три группы уrolитов (уратную, фосфатную, оксалатную) отличающихся качественным и количественным набором аминокислот (рис. 16). Результаты

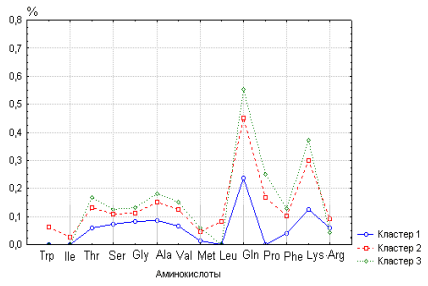


Рис. 16. Средние значения содержания аминокислот в мочевых камнях, принадлежащих к различным кластерам: 1 – оксалаты, 2 – фосфаты, 3 – ураты

определения аминокислот в различных патогенных образованиях (уролиты, дентолиты и саливолиты), показали, что содержание в них глутамина и лизина больше, чем других аминокислот. Отличительной особенностью данных аминокислот является наличие в их составе дополнительных боковых функциональных групп (аминогруппы – в лизине, карбоксильного остатка – в глутаминовой кислоте), что позволяет им активно участвовать в образовании ОМА. Данное предположение подтверждается результатами экспериментов по кристаллизации уевеллита и апатита в присутствии аминокислот. **Влияние аминокислот на кристаллизацию уевеллита.** В качестве испытуемых были выбраны аминокислоты, характеризующиеся относительно высоким содержанием как в почечных камнях фосфатного типа, так и в моче (см. рис. 16). Значения pH ($6,45 \pm 0,05$), ионная сила (0,3) и концентрации аминокислот (0,004 моль/л) в модельных растворах были близки к среде, в которой протекает образование уrolитов. Предварительное изучение визуальным методом влияния глутаминовой и аспарагиновой аминокислот на период индукции одноводного оксалата кальция показало, что в диапазоне концентраций (10^{-5} – 10^{-6} моль/л) эти кислоты практически не изменяют кинетику нуклеации. При увеличении концентраций данных аминокислот до 10^{-2} моль/л (именно в такой концентрации, в среднем, аминокислоты присутствуют в моче) удалось выявить их ингибирующее действие на образование зародышей кристаллизации (табл. 9). Природа аминокислоты также влияет на стадию нуклеации одноводного оксалата кальция. Присутствие в растворе таких аминокислот, как глицин и пролин, катализирует образование зародышей (табл. 9); воздействие возрастает с увеличением концентрации аминокислот. Такое поведение «коротких» аминокислот можно объяснить близкими геометрическими размерами этих аминокислот и оксалат-иона. В этом случае катионы кальция в растворе могут участвовать в образовании не только одноводного оксалата кальция, но и хелатных комплексов с аминокислотами, которые, в свою очередь, становятся центрами кристаллизации. На кинетических кривых, характеризующих полноту протекания кристаллизации оксалата кальция во времени (α), в присутствии аминокислот установлено

снижение этого параметра. Эффект возрастает с увеличением концентрации вводимой добавки.

Таблица 9

**Результаты определения периодов индукции
одноводного оксалата кальция ($\gamma=7$)
в присутствии аминокислот**

Добавка	Концентрация	Время, сек
Нет	0	663
Глутаминовая	10^{-5}	578
	10^{-2}	2365
Аспарагиновая	10^{-5}	567
	10^{-2}	1920
Глицин	10^{-5}	55
	10^{-2}	2
Пролин	10^{-5}	32

Для определения кинетических параметров кристаллизации проинтегрировав по времени уравнение: $\alpha = (C_0 - C_t)/(C_0 - C_s) = V_t/V_{max}$,

где C_0 – начальная концентрация кальция; C_t – концентрация во время t ; C_s – равновесная концентрация кальция; V_t – полный осаждённый объём; V_{max} – наибольший объём осадка в каждом эксперименте, получаем скорость осаждения как функцию концентрации ионов к моменту времени t : $da/dt = k A(C_t - C_s)^n$,

где k – коэффициент пропорциональности; A – суммарная площадь поверхности осадка (полагая число зародышей постоянным, имеем $A \sim \alpha^{-2/3}$); n – «порядок реакции».

Результатом логарифмирования (3) является уравнение: $lg(da/dt) - 2/3 lg \alpha = lg K' + n lg(C_t - C_s)$, (4)

где K' – эффективная константа скорости реакции осаждения, включающая

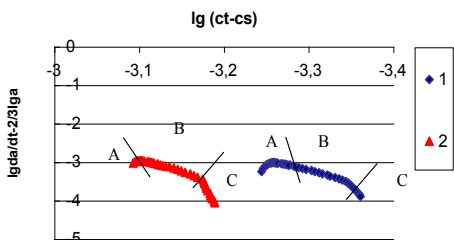


Рис. 17. Кинетические кривые кристаллизации одноводного оксалата кальция:

1 – без добавок; 2 – (аспар-новой кислоты) $= 10^{-5} M$

коэффициент пропорциональности. На полученных кинетических кривых (рис. 17) отчетливо выделяются три участка. Участок А соответствует увеличению общего числа частиц за счет образования зародышей кристаллизации, участок В – росту образовавшихся частиц без увеличения их общего количества, изменение наклона участка С свидетельствует об уменьшении общего числа образующихся частиц за счет растворения мелких и роста более крупных и их агрегирования. При изучении кинетики ростовых процессов минералов наибольший интерес представляет участок В, поэтому в дальнейшем его использовали при расчете основных кинетических характеристик кристаллизации одноводного оксалата кальция.

Полученные результаты показали, что присутствие добавок аминокислот в концентрации 10^{-6} моль/л при пересыщениях от 5 до 7 не изменяет кинетику роста оксалата кальция. Увеличение концентрации аминокислот на порядок (до 10^{-5} моль/л) ведет к снижению константы скорости реакции осаждения. Дальнейшее увеличение концентрации аминокислот до значения 10^{-2} моль/л резко снижает константу скорости реакции кристаллизации (например для глутаминовой кислоты от 10^{23} до 10^5). Ингибирующее действие амино-

кислот можно объяснить адсорбцией их ионов на активных точках роста кристаллов уевеллита. Результаты расчета доли каждой формы аминокислоты, присутствующей в растворе в условиях эксперимента (pH = 6,5 и 7,4) показали, что в водном растворе исследуемые аминокислоты присутствуют, в основном, в виде заряженных частиц ($^+\text{NH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$, $^-\text{OOCCH}(\text{NH}_3)^+\text{CH}_2\text{COO}^-$, $^-\text{OOCCH}(\text{NH}_3)^+ + \text{H}_3\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{NH}_3)^+\text{COO}^-$, $(\text{CH}_2)_2\text{COO}^-$ и т. д.), способных сорбироваться как на положительных, так и на отрицательных областях поверхности кристаллов. Кроме того, дополнительная стабилизация образующихся поверхностных соединений может быть обусловлена способностью аминокислот образовывать полидентатные хелатные комплексы с ионами кальция. Если принять во внимание данные о нахождении аминокислот в водных растворах в виде цвиттер-ионов, а также ионную природу одноводного оксалата кальция, то наиболее вероятным представляется электростатическое взаимодействие аминокислот с поверхностью синтезируемых кристаллов. Увеличение концентрации аминокислоты в растворе приводит к блокировке большего количества активных центров, что способствует дальнейшему замедлению роста кристалла. Из всех изученных аминокислот наибольшим влиянием на рост кристаллов уевеллита обладает глутаминовая аминокислота.

С помощью дисперсионного анализа (минимальный размер кристаллов – 0,03 мкм), удалось установить, что аминокислоты оказывают разное влияние на величину индукционного периода. При $\gamma=7$ первые кристаллы оксалата кальция при добавлении пролина, глицина и аланина (концентрация 10^{-5} моль/л) были зафиксированы уже менее чем через 1 минуту от начала реакции кристаллизации, а при добавлении глутаминовой кислоты в той же концентрации – лишь спустя более 5 минут после начала реакции. В системе без добавок аминокислот образование кристаллов начиналось практически сразу после сливания растворов (рис. 18).

Для одноводного оксалата кальция без добавок полученная зависимость носит бимодальный характер и имеет большую дисперсию, которая к тому же возрастает с увеличением пересыщения. Вероятно, рост кристаллов в процессе кристаллизации осуществляется одновременно на кристаллических центрах нескольких типов, что и обуславливает полимодальность полученных кривых распределения. Бимодальность сильнее проявляется при увеличении пересыщения раствора. Добавки *аминокислот* приводят к резкому сжатию кривых распределений и уменьшению среднего размера кристаллов. Это подтверждает выводы, сделанные на основании кинетических экспериментов, о том, что аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты оказывают ингибирующее действие на процессы роста кристаллов одноводного оксалата кальция. Сравнение кривых на рис. 18 (а, б) показывает, что ингибирующее действие аминокислот сильнее проявляется при меньших пересыщениях. Кроме того, в условиях малых пересыщений средний размер образующихся кристаллов в присутствии глутаминовой кислоты меньше, чем в присутствии аспарагиновой кислоты. Таким образом, ингибирующее действие глутаминовой кислоты выражено сильнее.

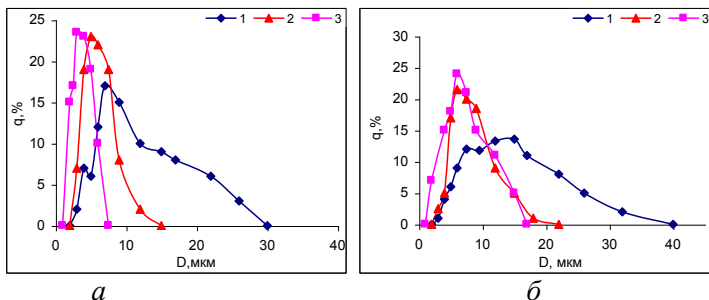


Рис. 18. Распределение кристаллов одноводного оксалата кальция по размерам (1 – без добавок; 2 – с добавкой аспаргиновой кислоты, $C=10^{-5}$ моль/л; 3 – с добавкой глутаминовой кислоты, $C=10^{-5}$ моль/л): $\gamma = 7$ (а), 10 (б); q – объемная доля, %

Было установлено, что степень ингибирования возрастает с увеличением концентрации аминокислоты (табл. 10). Особое влияние как на нуклеацию, так и на рост кристаллов одноводного оксалата кальция оказывает глутаминовая кислота. Кристаллизация одноводного оксалата кальция в присутствии глутаминовой кислоты при концентрации $C = 10^{-2}$ моль/л начинается лишь при пересыщении $\gamma = 10$. Таким образом, ингибирующий эффект глутаминовой кислоты сопоставим с воздействием компонент фонового электролита.

Таблица 10

Средние размеры кристаллов одноводного оксалата кальция при кристаллизации с добавками аминокислот ($\gamma = 7$)

Аминокислота	Концентрация, моль/л	
	10^{-5}	10^{-2}
Глутаминовая	$3,88 \pm 0,09$ мкм	менее 0,03 мкм
Аспарагиновая	$5,08 \pm 0,06$ мкм	менее 0,03 мкм
Глицин	$6,11 \pm 0,07$ мкм	$3,95 \pm 0,05$ мкм
Аланин	$5,52 \pm 0,04$ мкм	$4,32 \pm 0,06$ мкм
Пролин	$5,30 \pm 0,07$ мкм	$4,73 \pm 0,04$ мкм
Оксалат кальция без добавок	$10,31 \pm 0,07$ мкм	

По возрастанию ингибирующего эффекта на кристаллизацию одноводного оксалата кальция аминокислоты можно расположить в следующий ряд: **Глицин < аланин < пролин < аспарагиновая кислота < глутаминовая кислота**. Сильное сродство ди- карбоксигрупп к оксалату кальция указывает на то, что белки, богатые аспарагиновой и глутаминовой кислотами, могут, с одной стороны, подавлять рост кристаллов увеличивая вследствие адсорбции на их поверхности, а с другой стороны, служить центрами нуклеации, адсорбируя ионы кальция из раствора, т.е. стимулировать камнеобразование. Ингибирующий эффект аминокислот сопоставим с воздействием компонент фонового электролита, но меньше чем тормозящее влияние катионов магния.

Кроме того, по результатам дисперсионного анализа установлено, что при внесении в раствор оксалата кальция с добавкой глутаминовой кислоты (концентрация $C = 10^{-2}$ моль/л) кристаллов гидроксилпатита ($8,29 \pm 0,16$

мкм) при пересыщении 7 (т. е. в условиях ингибирования кристаллизации) наблюдается кристаллизация одноводного оксалата (средний размер частиц твердой фазы возрастает до $19,14 \pm 0,29$ мкм). Следовательно, в присутствии кристаллов гидроксилapatита происходит образование и рост кристаллов уевеллита даже при высоких концентрациях аминокислот.

Влияние аминокислот на кристаллизацию апатита. Изучено влияние аминокислот на электрокинетические свойства частиц золя стехиометрического и нестехиометрического ($Ca/P = 1,58$) гидроксилapatитов (табл. 7). В качестве испытуемых были выбраны аминокислоты, характеризующиеся относительно высоким содержанием как в почечных камнях фосфатного типа, так и в моче (см. рис. 20), при этом pH ($6,45 \pm 0,05$), ионная сила (0,3) и концентрации аминокислот (0,004 моль/л) в модельных растворах были близки к среде, в которой протекает образование уролитов. Показано, что сорбция аминокислот на кристаллах стехиометрического и нестехиометрического гидроксилapatитов различна и определяется характером электростатического взаимодействия. В зависимости от природы аминокислоты при данной концентрации, pH и ионной силе раствора заряд и значение ξ -потенциала поверхности апатитов варьируют. Взаимодействие аминокислот с поверхностью кристаллов нестехиометрического гидроксилapatита увеличивается с уменьшением отрицательного заряда доминирующей в растворе формы аминокислоты. Для стехиометрического гидроксилapatита наблюдается обратная закономерность. При этом по увеличению силы электростатического взаимодействия с нестехиометрическим гидроксилapatитом испытуемые аминокислоты можно ранжировать в следующий ряд: **лизин > глицин > глутаминовая кислота > аспарагиновая кислота**. Для стехиометрического гидроксилapatита, имеющего положительно заряженную поверхность, ряд будет обратным. Вероятно, данные закономерности обусловлены способностью глицина и лизина перезаряжать поверхность частиц нестехиометрического гидроксилapatита, а также изменением знака заряда поверхности стехиометрического гидроксилapatита при адсорбции глицина, аспарагиновой и глутаминовой аминокислот. Для подтверждения роли аминокислот в процессе кристаллизации гидроксилapatита изучены вариации среднего размера частиц гидроксилapatитов, синтезированных в их присутствии (табл. 8). Кривые распределения по размерам частиц апатитов, полученных в присутствии разных аминокислот, но при одинаковых соотношениях Ca/P, подобны (хотя средние размеры частиц отличаются), что свидетельствует об идентичности механизмов взаимодействия разных аминокислот с основным фосфатом кальция. Из табл. 8 видно, что в диапазоне изучаемых концентраций данные кислоты оказывают ингибирующее действие на рост кристаллов гидроксилapatита. При этом ингибирующая способность глутаминовой и аспарагиновой кислот возрастает с увеличением соотношения Ca/P, что видно по изменению средних размеров частиц твердой фазы. Полученную закономерность можно объяснить увеличением силы электростатического взаимодействия между твердой фазой и аминокислотами, обусловленную изменением заряда поверхности частиц гидроксилapatита в зависимости от степени нестехиометрии его состава. Сила электростатического взаимодействия

аминокислот с поверхностью кристаллов нестехиометрического гидроксилapatита увеличивается с уменьшением отрицательного заряда доминирующей в растворе формы аминокислоты. Способность аспарагиновой кислоты в большей степени (по сравнению с глутаминовой) ингибировать рост кристаллов стехиометрического гидроксилapatита также может быть объяснена образованием более прочных хелатных комплексов с ионами Ca^{2+} ($\text{pK}_{(\text{CaAsp})} = 1,989$; $\text{pK}_{(\text{CaGlu})} = 1,474$). Влияние глицина на процесс кристаллизации стехиометрического гидроксилapatита несколько отличается от воздействия остальных кислот, при исходном соотношении в растворе $\text{Ca}^{2+}/\text{PO}_4^{3-} = 1,90$ присутствие глицина в концентрации 0,004 моль/л ведет к увеличению среднего размера частиц по сравнению с фазой, полученной в отсутствие аминокислоты. Можно предположить, что увеличение среднего размера частиц синтезированного гидроксилapatита в присутствии глицина связано с возможностью анионной формы глицина замещать гидроксил-ионы в структуре гидроксилapatита.

Ингибирование аминокислотами роста и агрегации кристаллов гидроксилapatита уменьшается с увеличением ионной силы раствора. Это является подтверждением тому, что взаимодействие исследуемой твердой фазы с аминокислотами носит в основном электростатический характер. Уменьшение адсорбции аминокислот на поверхности гидроксилapatита может происходить за счет сорбции ионов индифферентного электролита.

Таким образом, аминокислоты оказывают ингибирующее действие на рост кристаллов оксалатов и фосфатов кальция, которое обусловлено их адсорбционным взаимодействием с поверхностью растущего кристалла; ингибирование ослабляется с увеличением ионной силы раствора. Кинетические характеристики кристаллизации увеллита и гидроксилapatита зависят от природы аминокислоты и её концентрации. Электростатическое взаимодействие аминокислот (глицина, лизина, глутаминовой и аспарагиновой) с апатитом зависит от степени нестехиометричности его состава.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

Разработан комплексный подход к исследованию патогенного минералообразования в организме человека, включающий всестороннее изучение органоминеральных агрегатов (почечных, желчных, зубных и слюнных камней), соответствующих камнеобразующих сред, а также широкое применение методов теоретического и экспериментального моделирования в прототипах биологических жидкостей.

Впервые предложены методики экстракционного разделения минеральной и органической составляющих органоминеральных композитов любой природы. Подобрано оптимальное сочетание взаимодополняющих методов изучения патогенных агрегатов из организма человека (химических, микроскопических, рентгендифракционных, спектроскопических). Проведен термодинамический расчет фазообразования малорастворимых соединений (аналогов минералов почечных, зубных и слюнных камней). Предложена математическая модель для описания кинетики нуклеации малорастворимых соединений в прототипах биологических жидкостей, основанная на уравнении Фоккера-Планка. Усовершенствованы методы синтеза основных минералов почечных камней (увеллита, апатита).

Детально исследована представительная коллекция почечных, желчных, зубных и слюнных камней (их морфология, структура, минеральный и химический состав); установлены связи между компонентами ОМА; проанализирована онтогенеза органоминеральных агрегатов.

– *Почечные камни*: идентифицировано 11 соединений (в ассоциации с кварцем обнаружен ранее не встречавшийся силикат кальция – минерал хатрурит Ca_3SiO_5); уточнены минеральные ассоциации камней разного состава, обнаружена микрогетерогенность мономинеральных участков камней; выявлены основные типы распределения органической компоненты; обнаружен переменный нестехиометрический состав основных минералов: оксалатов (увеллит, уделлит) и фосфатов (струвит, апатит); показаны связи между микроэлементным и фазовым составом камней; установлено селективное соответствие между минеральной компонентой (оксалатной, фосфатной, уратной) и набором аминокислот; для Омского региона выявлены связи между химическим составом питьевой воды и уровнем заболеваемости мочекаменной болезнью.

– *Зубные и слюнные камни*: идентифицированы различные фосфаты кальция (наиболее распространен апатит); на основании сравнения вариаций параметров кристаллической решетки апатитов зубных, слюнных, мочевых камней и твердых тканей зубов человека показано, что при патогенном минералообразовании состав и pH ротовой жидкости меняются в существенно более широком диапазоне, чем при физиогенном, но меньше, чем соответствующие характеристики патогенной мочи.

– *Желчные камни*: с использованием разработанной методики поэтапного экстракционного разделения выявлена широкая встречаемость в холестериновых камнях различных модификаций карбонатов кальция (кальцита, фатерита, арагонита, с преобладанием фатерита), а также витлокита и ряда органических соединений – билирубина, натриевой соли желчной кислоты. Показано, что микроэлементный состав холиолитов зависит от окружающей среды, особенностью Омского региона является присутствие в камнях Mn, Fe, Cu, Hg (содержание более 10^{-4} мас%).

В целом, *результаты исследования вещества мочевых, желчных, слюнных и зубных камней* выявили их многофазность, микрогетерогенность, зональную неоднородность, а также переменный состав большинства биоминералов, что позволяет сделать вывод о том, что в процессе камнеобразования состав физиологических растворов претерпевает существенные, часто периодические, изменения.

Показано, что выделенные ранее *механизмы кристаллизации фаз почечных камней* характерны и для других патогенных органоминеральных агрегатов: прямая кристаллизация – для агрегатов, минеральная компонента которых включает органическую составляющую (оксалатные и уратные уrolиты; холестериновые холелиты); агрегация и осаждение вещества (седиментация) – для камней, минеральная компонента которых состоит из неорганических соединений (фосфатные уrolиты, дентолиты и саливолиты).

Проведено определение параметров желчи и ротовой жидкости в норме и патологии; выявлены отличия состава патогенных камнеобразующих сред; установлены связи между характеристиками физиологических растворов и образующихся в них камней.

– *Патогенная желчь*: установлено, что содержание большинства элементов (Na, Ca, P, K, Mg), белковых соединений, триглицеридов, холестерина, желчных кислот, фосфолипидов и билирубина в несколько раз превышает их содержание в норме; содержание кальция, железа, меди, марганца в *желчных камнях* существенно больше, чем в желчи; расчет индексов литогенности исследованной желчи подтвердил отклонение ее основных параметров от находящейся в норме.

– *Ротовая жидкость*: выявлено, что слюна людей, страдающих слюнно-каменной болезнью (принимающих сердечные лекарственные препараты и карисеподверженных) и слюна здоровых людей отличаются по pH, концентрации ионов кальция, натрия и белка; в зубных камнях средние концентрации ряда элементов ($Zn > Fe > Cu$) отвечают соответствующим значениям в ротовой жидкости; общее содержание аминокислот в слюнных и зубных камнях больше, чем в ротовой жидкости; картина микрокристаллизации слюны у лиц, длительное время работающих на компьютере, отличается от таковой для слюны здоровых людей.

– *Моча*: установлено несоответствие ряда средних концентраций химических элементов и аминокислот в нормальной моче человека ряду средних массовых содержаний данных элементов и аминокислот в почечных камнях; содержание элементов (Fe, Zn, Cu, As и, особенно, I, Pb) в почечных камнях по сравнению с мочой повышено, что указывает на увеличение их концентрации в моче при камнеобразовании.

В целом, результаты исследования патогенных физиологических жидкостей и выявленные связи между характеристиками физиологических растворов и образующихся в них камней, показали, что *при переходе в патогенное состояние* концентрация основных неорганических компонентов повышается, а содержание белковых и других органических составляющих может как увеличиваться (желчь, моча), так и уменьшаться (смешанная слюна).

Изучены условия фазообразования в моче и ротовой жидкости

– На основе *термодинамических расчетов* определены индексы пересыщения и построены диаграммы устойчивости основных патогенных минералов почечных, зубных и слюнных камней.

Показано, что *в моче* человека вероятно образование следующих фаз: брушит, витлокит, гидроксилapatит, увеллит, уделлит, коаксит, кальцит, ньюберит и струвит; образование микроэлементами мочи (Fe, Al, Zn, Sr, Ti, Cu) малорастворимых соединений с основными анионами раствора невозможно. *В ротовой жидкости* вероятно образование различных фосфатов кальция (монетита, брушита, октакальций-фосфата, витлокита, гидроксилapatита, фторapatита) и ньюбирита.

– *В результате экспериментов* по кристаллизации из прототипов биологических жидкостей получены аналоги следующих минералов: для *мочевых камней* брушит, струвит, гидроксилapatит и витлокит, а также рентгеноаморфный фосфат кальция; для *зубных и слюнных камней* – брушит, струвит, апатит, а также рентгеноаморфный фосфат кальция. Показано, что гидроксилapatит в следовых количествах образуется при кристаллизации практически всех фаз. Установлено, что величина pH раствора оказывает гораздо более существенное влияние на состав образующейся твердой фазы, чем варьирование начальных концентраций компонентов раствора.

– В целом, продемонстрировано, что *патогенное фазообразование в организме человека крайне неравновесно*. Наиболее стабилен основной фосфат кальция (апатит), что объясняет его широчайшее распространение в составе патогенных агрегатов в организме человека.

Изучены особенности кристаллизации основных патогенных фаз почечных камней (оксалатов, фосфатов).

– С помощью математической модели, основанной на уравнении Фоккера – Планка, описан процесс *нуклеации малорастворимых соединений*, характеризующийся вариациями плотности распределения кристаллитов по размерам; проведена оценка кинетики спада пересыщения в результате фазообразования.

– Экспериментально изучено влияние неорганических (фосфат-, оксалат-, карбонат-анионы, катионы магния) и органических (аминокислот) добавок на кристаллизацию увеллита и гидроксилapatита; продемонстрирована определяющая роль

органических соединений белковой природы при кристаллизации соединений входящих в состав ОМА; показано, что ингибирующий эффект аминокислот сопоставим с воздействием компонент фонового электролита, но меньше, чем тормозящее влияние катионов магния; электрокинетические свойства синтезированных гидроксилпатитов (знак заряда, электрофоретическая подвижность и ξ -потенциал) зависят от степени нестехиометричности их состава (величины отношения Са/P); на силу адсорбционного ингибирования аминокислотами кристаллизации увеллита и гидроксилпатита влияют природа кислоты и её концентрация, а в случае гидроксилпатита также степень нестехиометричности его состава; присутствие в растворе кристаллов гидроксилпатита инициирует процесс кристаллизации увеллита.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Голованова О.А. Патогенные минералы в организме человека. Омск, 2007. 395 с.
2. Голованова О.А., Борбат В.Ф. Почечные камни. М. Мед. книга. 2005. 172 с.
3. Голованова О.А. Фазовый и химический состав желчных камней в организме человека. Параметры камнеобразующей среды // Вестник СПбГУ. Серия 4. 2006. С. 76–82.
4. Голованова О.А. Комплексное изучение почечных камней (обзор) // Известия ВУЗов. Серия «Химия и химическая технология». 2004. Т. 47. Вып. 1. С. 3–12.
5. Голованова О.А. Минералы почечных камней жителей Омского региона и некоторые вопросы термодинамики их образования // ЗВМО № 5. С. 94–104.
6. Борбат В.Ф., Голованова О.А., Пятанова П.А., Россеева Е.В. Способ определения микроколичеств белковых соединений в почечных камнях. Патент № 2238549. Решение о выдаче патента на изобретение заявка № 2003104252/15(004438) от 12.02.2003.
7. Голованова О.А., Бельская Л.В., Ломиашвили Л.М., Борисенко М.А. Способ определения уровня воздействия компьютерного излучения на состояние зубов. Решение о выдаче патента на изобретение заявка 2666110490/15(011425) от 21.03.2007.
8. Голованова О.А., Ачкасова Е.Ю., Пунин Ю.О., Желяев Е.В. Основные закономерности кристаллизации оксалата кальция в присутствии аминокислот // Кристаллография. 2006. Т. 51. № 2. С. 376–382.
9. Голованова О.А., Ачкасова Е. Ю., Когут В.А. Информационно-поисковые системы и расчетные программы в эколого-аналитическом мониторинге // Обзорение прикладной и промышленной математики. 2004. Т. 11. Вып. 3. С. 626–628.
10. Голованова О.А., Ачкасова Е.Ю., Глухова О.В. Разработка автоматизированных информационно-поисковых систем и расчетных программ для эколого-аналитического мониторинга // Известия ВУЗов. Серия «Химия и химическая технология». 2003. Т. 46. Вып. 5. С. 83–86.
11. Голованова О.А., Ачкасова Е.Ю., Когут В.В., Желяев Е.В. Разработка программного обеспечения для моделирования нуклеации в многофазных системах // Математические структуры и моделирование. 2004. Вып. 13. С. 144–149.
12. Голованова О.А., Ачкасова Е.Ю., Пятанова П.А. Микроэлементы почечных камней и их влияние на процесс патогенного минералообразования // Вестник СПбГУ. 2005. № 4(7). С. 87–92.
13. Голованова О.А., Бельская Л.В., Березина Н.Ю. Спектральный количественный анализ эссенциальных микроэлементов в патогенных биоминералах жителей Омского региона // Прикладная спектроскопия. 2006. Т. 73. № 6. С. 792–796.
14. Голованова О.А., Бельская Л.В., Казанцева Р.В. Минеральный и элементный составы зубных камней жителей Омского региона // Вестник СПбГУ. 2006. № 1(7). С. 90–93.

15. Голованова О.А., Воронкова Л.В., Качесова П.А. Разработка способов фторирования питьевой воды на примере Омского региона // Омский научный вестник. 2004. № 1(26). С. 83–85.
16. Голованова О.А., Качесова (Пятанова) П.А. Влияние химического состава питьевой воды на микроэлементный состав почечных камней. // Известия ВУЗов. Серия «Химия и химическая технология». 2002. Т. 45. Вып.2. С. 136–139.
17. Голованова О.А., Когут В.А. Разработка программного обеспечения для моделирования нуклеации в многофазных системах // Математические структуры и моделирование. 2004. Вып. 13. С. 144–149.
18. Голованова О.А., Когут В.В., Желяев Е.В. Моделирование нуклеации оксалата кальция // Математические структуры и моделирование. 2004. Вып. 11. 2003. С. 42–47.
19. Голованова О.А., Когут В.В., Желяев Е.В. Численное моделирование процесса кристаллизации оксалата кальция из раствора // Обзорные прикладной и промышленной математики. 2003. Т. 10. Вып. 2. С. 458–459.
20. Голованова О.А., Пальчик Н.А., Березина Н.Ю., Юдина Л.Н. Сравнительная характеристика минерального и микроэлементного состава желчных камней, удаленных у пациентов в Новосибирской и Омской областях // Химия в интересах устойчивого развития. 2006. № 14. С. 125–131.
21. Голованова О.А., Пальчик Н.А., Максимова Н.В., Дарьин А.В. Сравнительная характеристика микроэлементного состава почечных камней Новосибирской и Омской областей // Химия в интересах устойчивого развития. 2007. № 15. С. 55–61.
22. Голованова О.А., Пятанова П.А., Пальчик Н.А., Столповская В.Н., Григорьева Т.Н., Низовский А.И., Шкуратов С.С. Фазовый и элементный состав и распространенность мочевых камней (Новосибирская и Омская области) // Химия в интересах устойчивого развития. 2003. № 4. С. 593–600.
23. Голованова О.А., Пятанова П.А. Влияние химического состава питьевой воды на микроэлементный состав почечных камней // Известия ВУЗов. Серия «Химия и химическая технология». 2002. Т. 45. Вып. 2. С. 136–139.
24. Голованова О.А., Пятанова П.А., Красногорова Е.В. Определение условий формирования малорастворимых соединений уролитов // Известия ВУЗов. Серия «Химия и химическая технология». 2003. Т. 46. Вып. 2. С. 94–97.
25. Голованова О.А., Пятанова П.А., Россеева Е.В. Анализ закономерностей распределения белковой составляющей мочевых камней // Доклады Академии наук. 2004. Т. 395. №. 5. С.1–3.
26. Голованова О.А., Пятанова П.А., Россеева Е.В. Морфологические особенности почечных камней пациентов Омского региона // Известия ВУЗов. Серия «Химия и химическая технология». 2002. Т. 45. Вып. 2. С. 109–113.
27. Голованова О.А., Пятанова П.А., Струнина Н.Н., Байсова Б.Т. Использование метода спектрального анализа для определения микроэлементного состава почечных камней // Журнал прикладной спектроскопии. 2003. Т. 70. № 3. С. 432–434.
28. Голованова О.А., Россеева Е.В., Франк-Каменецкая О.В. Аминокислотный состав камней мочевой системы человека // Вестник СПбГУ. Сер. 4. 2006. Вып. 2. С. 123–127.
29. Голованова О.А., Качесова (Пятанова) П.А., Низовский А.И. Особенности минералообразования камней мочевой системы пациентов Омского региона // Уральский геологический журнал. 2000 №6(18). С. 173–175.
30. Голованова О.А., Ачкасова Е.Ю., Когут В.В., Желяев Е.В. Разработка программного обеспечения для моделирования нуклеации в многофазных системах // Математические структуры и моделирование. 2004. Вып. 13. С. 144–149.

31. Голованова О.А., Когут В.В., Желяев Е.В. Моделирование нуклеации оксалата кальция // Математические структуры и моделирование. 2003. Вып. 11. С. 42–47.
32. Голованова О.А., Когут В.В., Желяев Е.В. Численное моделирование процесса кристаллизации оксалата кальция из раствора // Обзорные прикладной и промышленной математики. 2003. Т. 10. Вып. 2. С. 458–459.
33. Голованова О.А., Юдина Л.Н., Борбат В.Ф. Определение компонентов желчных камней и параметров камнеобразующей среды // Известия вузов. Серия «Химия и химическая технология». 2004. Т. 47. Вып. 10. С. 125–129.
34. Borbat V.F., Golovanova O.A., Pyatanova P.A. Researching of water quality in Omsk region // International journal “Ecology and life”. Novgorod the Great, 2002. Issue 6. 2nd Edition. P. 7–8.
35. Бельская Л.В., Голованова О.А., Блинов В.И., Савченко Р.К., Франк-Каменецкая О.В., Ельников В.Ю. Особенности фазового состава и кристаллической структуры зубных и слюнных камней // Вестник ОмГУ. 2006. № 2. С. 56–58.
36. Бельская Л.В., Голованова О.А., Ломиашвили Л.М., Борисенко М.А. Влияние ряда факторов на состав и структурные свойства ротовой жидкости // Вестник ОмГУ. 2006. № 1. С. 33–35.
37. Борбат В.Ф., Голованова О.А., Качесова (Пятанова) П.А., Низовский А.И., Бубнов А.В., Тренихин М.В., Вичканов А.Н. Использование физических методов исследования для диагностики, прогнозирования рецидивов и принципов лечения мочекаменной болезни // Омский научный вестник. Омск, 2001. Вып. 14. С. 152–155.
38. Борбат В.Ф., Голованова О.А., Пятанова П.А. Исследование состава и строения почечных камней с помощью методов рентгенофазового анализа, ИК-спектроскопии и растровой электронной микроскопии // Известия ВУЗов. Серия «Химия и химическая технология». 2002. Т. 45. Вып. 1. С. 64–67.
39. Борбат В.Ф., Голованова О.А., Пятанова П.А. Экзогенные факторы в развитии уролитиаза // Уральский геологический журнал. 2002. № 4 (28). С. 245–250.
40. Борбат В.Ф., Голованова О.А., Пятанова П.А. Экзогенные факторы в развитии уролитиаза // Уральский геологический журнал. 2002. № 4(28). С. 245–250.
41. Ельников В.Ю., Россеева Е.В., Голованова О.А., Франк-Каменецкая О.В. Термодинамическое и экспериментальное моделирование образования основных минеральных фаз почечных камней // ЖНХ. 2007. № 2. С. 12–19.
42. Изагулина А.Р., Голованова О.А., Пунин Ю.О., Войтенко Н.Н., Дроздов В.А. Изучение факторов, влияющих на кристаллизацию одноводного оксалата кальция // Вестник ОмГУ. 2006. № 3. С. 45–47.
43. Пихур О.Л., Голованова О.А., Бельская Л.В., Лемешева С.А. Химический состав некоторых патогенных органоминеральных агрегатов в организме человека // Российский семейный врач. 2007. Т. 11. № 1. С. 34–36.
44. Пихур О.Л., Голованова О.А., Ломиашвили Л.М., Бельская Л.В. Состояние окружающей среды и заболевания твердых тканей зубов жителей Санкт-Петербурга и Омска // Сибирь-Восток. 2005. № 10. С. 10–12.
45. Пихур О.Л., Голованова О.А., Ширинский В.А., Бельская Л.В., Лемешева С.А. Роль экологических факторов в формировании патологических состояний в организме человека // Сибирь-Восток. 2006. № 8. С. 12–14.
46. Рабинович А.А., Голованова О.А., Изагулина А.Р., Блинов В.И. Моделирование образования моногидрата оксалата кальция в живых организмах. Влияние условий эксперимента на фазовый состав осадка // Вестник ОмГУ. 2006. № 3. С. 48–50.
47. Борбат В.Ф., Голованова О.А., Юдина Л.Н. Изучение желчных камней с использованием физико-химических методов // Известия вузов. Серия «Химия и химическая технология». 2002. Т. 45. Вып. 1. С. 67–70.

48. Россеева Е.В., Голованова О.А., Франк-Каменецкая О.В. Влияние аминокислот на образование нанокристаллического гидроксилатапата почечных камней // Физика и Химия стекла. 2007. Т. 33. Вып. 3. С. 393–398.
49. Рабинович А.А., Голованова О.А., Бубнов А.В., Тренихин М.В., Понаморев Е.А. Синтез гидроксилатапата и влияние добавок на его структуру // Известия ВУЗов. Серия «Химия и химическая технология». 2007. Т. 50. Вып. 2. С. 36–40.
50. Rosseeva E.V., Golovanova O.A., Frank-Kamenetskaya O.V. The influence of amino acids on the formation of nanocrystalline hydroxyapatite // Glass Physics and Chemistry. 2007. Vol. 33. No. 3. P. 283–286.
51. Голованова О.А., Бельская Л.В., Лемешева С.А. Микроэлементный состав патогенных минералов как индикатор экологического состояния Омского региона // Физика и Химия стекла. 2007. Т. 33. Вып. 4. С. 585–591.
52. Голованова О.А. Патогенные минералы в организме человека // Сб. трудов Санкт-Петербургского общества естествоиспытателей. 2006. Серия 1. Т. 96. С. 107–123.
53. Rabinovcdh A.A., Golovanova O.A., Blinov V.I. Influence of inorganic and organic additives on the composition of the precipitate of synthetic hydroxylapatite and calcium oxalate monohydrate // Glass Physics and Chemistry. 2008. Vol. 34. No. 3. P. 332–335.
54. Голованова О. А. Особенности патогенного минералообразования в организме человека // Вестнике ТГУ, № 313. С. 215–224.
55. Голованова О.А., Понамарева Е.Ю., Франк-Каменецкая О.В. Влияние компонентов биологической среды на формирование гидроксилатапата // Химия в интересах устойчивого развития. №16, 2008. С. 1–6.
56. Бельская Л.В., Голованова О.А., Пальчик Н.А. Микроэлементный состав слюнных камней // Химия в интересах устойчивого развития, 2008. №17. С.298–304.
57. Лемешева С.А., Голованова О.А., Городилов Р.В. Особенности фазового состава человека костной ткани при коксартрозе // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология. Клиническая медицина. Выпуск 1. Том 6, 2008. С. 16–20.
58. Голованова О. А., Панова Т. В., Ефимова А., Лакман А.В. Применение метода оптической микроскопии для изучения кристаллизации одноводного оксалата кальция. // Известия ВУЗов. Химия и химическая технология, 2008. Т.51. №9. С.34–38.

+ тезисы докладов (71) и статьи (28) в сборниках материалов российских и международных научных конференций.

Подписано в печать 10.10.08. Формат бумаги 60x84 1/16.

Печ. л. 2,0. Уч.-изд. л. 3,9. Тираж 100 экз. Заказ .

Издательство ОмГУ
644077, г. Омск, пр. Мира, 55А, госуниверситет