



Изучение биофизических свойств костной ткани для медико-биологических приложений

Матвейчук И.В.¹ • Розанов В.В.^{1,2} • Литвинов Ю.Ю.¹

Актуальность. В последние десятилетия объемом реконструктивно-восстановительных операций в травматологии значительно вырос ввиду повышения случаев травматизма, числа пострадавших в локальных военных конфликтах, ухудшения экологии. Это привело к увеличению потребности в пластическом материале и необходимости создания современных наукоемких технологий, позволяющих удовлетворить спрос на пластический материал, включая альтернативные источники получения костных имплантатов. Решение этой проблемы предусматривает углубленное изучение биофизических свойств костной ткани с использованием инновационных методов для разработки требований к созданию новых эффективных имплантатов на основе как натуральной кости, так и искусственных и природных аналогов. Указанные аспекты стали **целью** настоящего исследования, результаты которого представляют интерес для медико-биологических и клинических приложений. **Материалом** исследования послужили фрагменты костей различной локализации человека в возрастном диапазоне от 3 до 89 лет и животных (бык) в возрасте от 1,5 до 2 лет. Биофизические особенности исследованного материала изучены на стадиях пробоподготовки с использованием оригинальных авторских **методов** физико-механической обработки, при анализе закономерностей изменения

структурно-функционального состояния костного вещества в норме, при изменении его композитности с учетом возрастного фактора, анизотропии материала и уровня структурной организации. Изучение закономерностей структуры выполнено с применением классических (световая, сканирующая электронная микроскопия) и современных (акустическая микроскопия) методов. Для оценки функциональных изменений в макро- и микрообъемах костных образцов использованы методы инженерной биомеханики. К основным **результатам** исследований следует отнести разработку инновационных методов пробоподготовки и структурно-функционального анализа. В первую очередь – методы механической обработки костных фрагментов, основанные на использовании в условиях ограниченного количества минерализованных биотканей дисковых и полых цилиндрических фрез, а также на применении гидродинамической инцизии, обеспечивающей щадящий режим высокоэффективного режущего воздействия на костную ткань. Другой отличительной особенностью исследования является разработанная методология морфо-механического анализа костных образцов на макро- и микроуровне с учетом реального физико-химического состояния образцов. С целью обеспечения стерильности образцов авторами предложены инновационные методы

с использованием озono-кислородных смесей. В результате исследований получены комплексные количественные характеристики, отражающие возрастные изменения композиционного состава костной ткани человека, анизотропию ее физико-механических характеристик, параметров остеонов, физико-механических показателей костной ткани с учетом композиционного состава. **Заключение.** Применение предложенной методологии позволило получить новые сведения о биофизических свойствах костной ткани, представляющие интерес для биоимплантологии, биоматериаловедения и расширяющие фундаментальные представления о костной ткани как природном биокомпозите. Они служат базой для выработки практических рекомендаций по оптимизации выбора костных фрагментов для изготовления имплантатов с учетом выявленных закономерностей изменения макро- и микроструктуры, физико-механических характеристик и состава костной ткани в исследованном возрастном диапазоне.

Ключевые слова: костная ткань, физико-механические характеристики, биоимплантаты, методы пробоподготовки, цилиндрические полые фрезы, гидродинамическая резка биотканей

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-2-193-202



Костная ткань представляет собой уникальный природный композитный биополимер, который участвует в построении костей как элементов биомеханической системы, выполняющих различные функции в организме человека и животных – опорную, локомоторную, защитную, а также служит депо минеральных компонентов на основе кальция и фосфора. В последние десятилетия отмечен повышенный интерес к комплексным исследованиям минерализованных тканей, что объясняется возрастанием объема реконструктивно-восстановительных операций в травматологии, ортопедии, челюстно-лицевой хирургии ввиду повышения случаев травматизма, ухудшения экологии, увеличения числа пострадавших в локальных военных конфликтах [1]. Это обусловило возрастание потребности в пластическом материале, соответствующем установленным медико-техническим требованиям. Учитывая, что количество костей аллогенного происхождения, отвечающих принятым критериям, постоянно снижается, существует необходимость создания современных наукоемких технологий, позволяющих удовлетворить спрос на пластический материал, включая альтернативные источники получения костных имплантатов. Актуальность рассматриваемой проблемы подтверждается тем, что 2001–2010 гг. были объявлены Всемирной организацией здравоохранения и Международным обществом ортопедической хирургии и травматологии (SICOT) десятилетием костей и суставов.

Существуют различные подходы к решению задач в рамках рассматриваемой проблемы. Один из них предполагает создание новых, а также совершенствование и экспериментальную апробацию существующих технологий получения и комплексного анализа биофизических свойств костной ткани как природного биополимера, включая изучение дифференциальных и интегральных характеристик основных его компонентов с применением объективных методов оценки морфофункционального состояния [1, 2]. Экспериментальные данные, полученные при использовании такого подхода, могут служить в качестве базисных при установлении критериев и выработке требований к созданию современных имплантатов, в том числе новых лекарственных форм с использованием костных имплантатов в качестве носителей лекарственных препаратов.

Цель настоящего исследования – изучение биофизических свойств костной ткани для медико-биологических приложений на основе комплексного структурно-функционального анализа

Матвейчук Игорь Васильевич – д-р биол. наук, профессор, руководитель Научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий¹
✉ 123056, г. Москва, ул. Красина, 2, Российская Федерация.
Тел.: +7 (499) 254 46 49.
E-mail: nizbmtvilar@mtu-net.ru

Розанов Владимир Викторович – канд. физ.-мат. наук, д-р биол. наук, зав. лабораторией Научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий¹, вед. науч. сотр. научного центра гидрофизических исследований физического факультета, профессор кафедры физики ускорителей и радиационной медицины физического факультета²
✉ 119991, г. Москва, Ленинские горы, 1/2, физический факультет МГУ, Российская Федерация.
Тел.: +7 (495) 939 24 44.
E-mail: vrozanov@mail.ru

Литвинов Юрий Юрьевич – заместитель руководителя Научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий¹

костных образцов с использованием наукоемких технологий их изготовления и современных методов исследования.

Материал и методы

Объектом исследования служили как целые бедренные, плечевые, большеберцовые, малоберцовые, нижнечелюстные кости, ребра, позвонки и их фрагменты, так и изготовленные из них с учетом методических и биологических факторов образцы компактного и губчатого вещества костей людей и животных. Указанный материал был взят от трупов мужчин европеоидной расы, причина смерти которых не связана с заболеваниями костно-суставной системы. Возрастной диапазон составил от 3 до 89 лет (II–VII возрастные группы), посмертный период – от 8 до 24 часов. Общее количество исследованных костей – 340.

Для сравнительного структурно-биомеханического анализа были использованы 400 костей от клинически здоровых животных класса млекопитающих (бык, возраст от 1,5 до 2 лет). Посмертный период составлял от 1 до 5 часов. Животных содержали в условиях их промышленного разведения в хозяйствах Подмосковья при стандартном режиме кормления.

Поскольку вопросам пробоподготовки костных образцов с учетом высоких современных требований до сих пор уделяется мало внимания, авторы предложили инновационные физические (основанные на применении отрезных дисковых и полых цилиндрических фрез) и физико-химические (с использованием метода гидродинамической инцизии) способы решения данной проблемы.

При проведении морфологического анализа применяли методы объективной регистрации – световую микроскопию, сканирующую электронную микроскопию и акустическую микроскопию. Биомеханические исследования осуществляли на макрообразцах (цилиндрические образцы диаметром от 3 до 5 мм, высота образцов – от 5 до 15 мм) посредством проведения испытаний на сжатие и путем изучения упруго-пластических свойств указанных образцов в микрообъемах, определяя показатель микротвердости по Виккерсу с учетом особенностей архитектоники и уровней структурной организации костной ткани. Физические характеристики костных образцов (объемная масса или кажущаяся плотность) изучали с помощью гравиметрического анализа, предварительно регистрируя линейные размеры с применением контактных и бесконтактных методов. Для

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» ФАНО России; 117216, г. Москва, ул. Грина, 7, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; 119991, г. Москва, Ленинские горы, 1, Российская Федерация

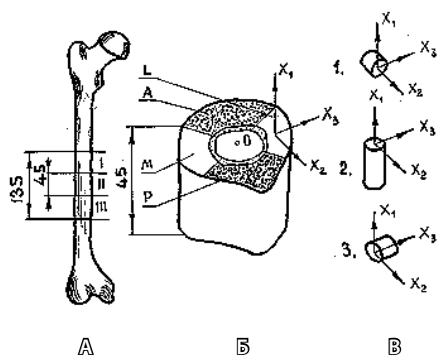


Рис. 1. Схема деления диафиза бедренной кости (А) на зоны и пояса (Б) с учетом фактора анизотропии (В): образцы продольной (1), тангенциальной (трансверсальной) (2) и радиальной (3) ориентации



Рис. 2. Цилиндрические полые фрезы разного рабочего диаметра

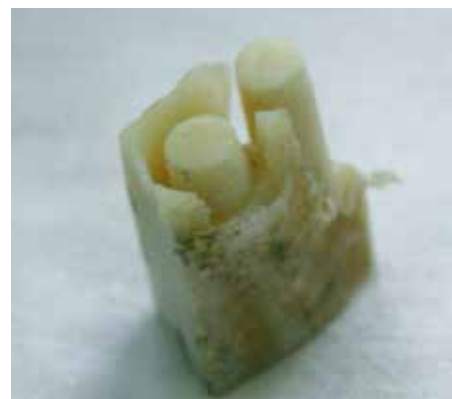


Рис. 3. Пример практической реализации метода получения образцов с помощью полых фрез при использовании ограниченного количества костного вещества

определения состава компактной костной ткани использовали композиционный и элементный анализ. В целях получения результатов, отражающих физико-механическое состояние образцов, близкое к реальному, снижение влияния условий хранения на костную ткань обеспечивали посредством сокращения времени до проведения исследований: морфологический анализ осуществляли не позднее 24 часов с момента забора фрагментов, а физико-механические исследования – в течение первых трех суток. Кратковременное хранение костных фрагментов до проведения исследований осуществляли в воздушной среде в специальной упаковке при температуре -20 ± 2 °С.

Для изучения композиционного состава костной ткани, соотношения основных фаз кости – органической, минеральной и воды – костные образцы подвергали деминерализации или деорганификации с целью селективного выделения исследуемого компонента. Полученные таким способом образцы органической и минеральной фаз сохраняли сплошность, непрерывность, что позволяло осуществлять их структурно-функциональный анализ. Подробное описание использованных методов исследования представлено авторами ранее [1–9].

С целью обеспечения стерильности образцов авторы применили инновационные подходы с использованием озono-кислородных смесей [10].

Несмотря на идентичные условия изготовления и испытания образцов, их физико-механические показатели и морфометрические характеристики имеют различия ввиду структурной макро- и микронеоднородности композитных биополимеров. В этой связи представленные

параметры отражают фактические свойства материала лишь с определенной точностью, зависящей от объема выборки, условий испытаний, особенностей материала и применяемой методики статистической обработки опытных данных. В настоящем исследовании результаты испытаний ограниченного количества образцов (выборки) обрабатывали с применением методов математической статистики согласно рекомендациям М.Н. Степнова [11].

Результаты и обсуждение

Разработка инновационных способов пробоподготовки костных образцов и их значение для биоимплантологии

С позиций биоматериаловедения [1, 8] костная ткань рассматривается как природный анизотропный биокомпозит, отличающийся хорошей обрабатываемостью при использовании традиционных методов механической обработки – точения, фрезерования. Это свойство позволяет получать костные образцы различной формы и размеров независимо от ориентации по отношению к главным осям анизотропии. На примере бедренной кости (рис. 1) показана возможность изготовления продольных, тангенциальных (трансверсальных) и радиальных образцов цилиндрической формы. Это реализовано с помощью полых цилиндрических фрез разной длины и диаметра (рис. 2) и специальных устройств, позволяющих осуществлять подобную механическую обработку в условиях ограниченного количества биоматериала (рис. 3).

Для обеспечения качества торцевых поверхностей, получения образцов необходимой высоты

применяли отрезные дисковые фрезы толщиной до 150 мкм с режущей частью в виде зубьев или выполненной с использованием алмазного напыления. Использование охлаждающих сред (вода, физиологический раствор) позволяло исключить нагрев костной ткани в процессе механической обработки, а также получить эффект дополнительного шлифования вновь образуемых костных поверхностей и высокого качества поверхностного слоя образцов.

Еще одно инновационное решение – применение в медико-биологических исследованиях гидроструйных технологий, благодаря которым можно развивать новые подходы и направления в медицинской практике [2–4]. Нами созданы специализированное оборудование и инструментарий, а также выработаны рекомендации по его применению. В частности, в рамках выполняемого цикла исследований выпущен экспериментальный образец оригинального медицинского гидроструйного аппарата «Аквamed-1», с помощью которого отработаны технологические режимы гидродинамической инцизии различных биологических тканей в лабораторных условиях. Для работы с костной тканью *in vitro* в условиях тканевого банка создан специализированный аппарат «Аквamed-2ТБ», оборудованный рабочим столом с регулируемыми перемещениями обрабатываемого костного фрагмента с помощью пневмоприводов.

Применение гидродинамической технологии не только позволяет эффективно резать костные фрагменты с различным композиционным составом, но и обеспечивает возможность придания им заданной формы при одновременном достижении высокого качества обрабатываемых поверхностей (рис. 4).

Вопросы пробоподготовки являются важной составной частью программы, предусматривающей разработку современных подходов к оптимизации проведения реконструктивно-восстановительных операций в травматологии, составляют основу совершенствования здоровьесберегающих технологий в биоимплантологии. В рамках рассматриваемой проблемы возникает необходимость решения комплекса задач, связанных с отработкой технологических подходов к выполнению операций, оценкой физиологического статуса и подготовкой пациента в оптимальный для его реального физиологического состояния период, выбором высокотехнологичных имплантатов, обеспечивающих минимальные сроки замещения дефекта с восстановлением органотипической структуры и утраченной



Рис. 4. Костные фрагменты эпифиза бедренной кости, полученные методом гидродинамической резки

функции кости как органа. Последняя задача, как и две предыдущие, сопряжена с необходимостью учета многих факторов, влияние которых на процесс остеогенеза представляется существенным. К малоизученным аспектам относится структурно-функциональное состояние поверхностного слоя биоимплантатов, особенности его формирования при физико-химических воздействиях. Именно в зоне контакта поверхностей имплантата и костного дефекта происходит взаимодействие костного вещества, определяющее дальнейший ход процесса регенерации. Особый интерес к этому вопросу объясняется следующими обстоятельствами. С одной стороны, к качеству имплантатов предъявляются очень высокие требования. С другой стороны, благодаря появившимся в последние годы возможностям применения высокотехнологичных способов физико-механического разделения и обработки биологических минерализованных тканей возникает потребность в проведении детального анализа структуры и физико-механических свойств поверхностей, образуемых при использовании указанных методов.

В кости, с учетом уровней ее структурной организации, имеется ряд естественных поверхностей. На макроуровне они представлены наружной (периостальной) и внутренней (эндостальной) поверхностью, образующей костно-мозговой канал. На микроуровне, при использовании традиционных методов физико-механической обработки минерализованных



Таблица 1. Закономерности возрастных изменений композиционного состава костной ткани человека

Возрастная группа (годы)	Содержание, % по массе		
	вода (свободная)	минеральная фаза	органическая фаза + вода (связанная)
II (3–11)	21,52 ± 0,65	58,84 ± 1,18	19,64
III (12–18)	19,6 ± 0,59	58,95 ± 1,77	21,45
IV (19–44)	10,2 ± 0,36	62,1 ± 0,61	27,70
V (45–59)	10,9 ± 0,38	62,8 ± 2,51	26,30
VI (60–74)	11,6 ± 0,35	61,9 ± 1,86	26,50
VII (75–89)	10,3 ± 0,31	64,4 ± 0,57	25,30

тканей, на поверхности образцов могут возникать необратимые структурные и физико-механические изменения в виде царапин, сколов, трещин, а также дефекты, обусловленные температурными напряжениями и деформациями. Как показали данные объективной регистрации состояния поверхностного слоя, образованного в результате использования методов гидродинамического или механического резания с помощью алмазных отрезных фрез и с применением охлаждения, даже в непосредственной близости от зоны резания микроструктура поверхности не претерпевает изменений [4]. Микрорельеф поверхности отвечает как требованиям, предъявляемым к биоимплантатам, так и биомеханическим условиям оценки показателя микротвердости, характеризующего упруго-пластические свойства поверхностного слоя [9]. Параметр шероховатости поверхности костных фрагментов Ra составляет от 0,1 до 0,6 мкм. Величина микротвердости не имела достоверных различий ни на поверхности костного образца, ни в его объеме. Отсутствие существенных морфомеханических изменений образцов минерализованных тканей подтверждается и данными исследований с применением акустической микроскопии [5].

Представляет интерес анализ свойств поверхностных слоев образцов с применением метода контактной профилометрии, однако эти методы не в полной мере отвечают требуемой точности и нуждаются в дальнейшем совершенствовании.

Заслуживает внимания косвенная оценка рельефа исследуемой поверхности образца посредством изготовления ее отпечатка с применением

масс для реплик. Имеющиеся в настоящее время композиции обладают способностью заполнять несплошности малых размеров (менее 0,1 мкм), что позволяет получать точную копию поверхности с последующим анализом полученных изображений. Это особенно важно при наличии образцов с измененным композиционным составом после проведения деминерализации, деорганизации или дегидратации [10].

Изучение композиционного состава костной ткани. Композиционный состав костной ткани, соотношение ее основных фаз – значимый показатель качества имплантатов, а также патологических изменений костной системы. В табл. 1 представлены закономерности его изменения в зависимости от возрастной принадлежности материала при изучении образцов компактного вещества бедренной кости мужчин [1]. Для развивающейся кости (II–III возрастные группы) отмечены низкие значения содержания минерального компонента (около 59%), органической фазы (19,64–21,45%) при высоком уровне свободной воды (19,6–21,52%). По достижении зрелого возраста (IV–V группы) доля минеральной фазы возрастает до 62,1–62,8%, а органической до 26,3–27,7%. Однако количество свободной воды снижается при этом до 10,2–10,9%. В процессе старения указанные величины не претерпевают существенных изменений, а их соотношения остаются практически без изменений (по данным анализа композиционного состава бедренных костей мужчин VI–VII возрастных групп).

Изучение композиционного состава бедренных и плечевых костей у животных не выявило существенных различий. Содержание свободной воды находилось в пределах 9,4–12,8%, доля минерального компонента составляла 60,67–71,19% от массы нативных влажных образцов, а органического 18,31–26,15%. При этом выявлена индивидуальная вариабельность содержания основных фаз, достигающая 10–15%.

Проведено изучение роли органического и минерального компонента в обеспечении механической функции кости как композита. Образцы органической и минеральной фаз имели низкие значения прочности (около 10% от ее значения для композита). Для образцов минерального компонента установлено изменение прочности при сжатии (σ_{11}), микротвердости (H_{11}) и объемной массы (ρ), обусловленное изменением влагосодержания образцов при высушивании их до постоянной массы при различных температурах (табл. 2).



Анизотропия механических свойств кости

Изучение закономерностей структуры кости как конструкции свидетельствует: она является гетерогенной с выраженной анизотропией, что обуславливает различие прочностных, деформативных и упруго-пластических характеристик в зависимости от ориентации по отношению к главным осям анизотропии – продольной X_1 , радиальной X_3 и тангенциальной (трансверсальной) X_2 , перпендикулярной X_1 и X_3 (табл. 3). При этом основной вклад в анизотропию механических свойств кости как композита вносит прежде всего минеральный компонент, для которого степень анизотропии является выраженной, а различия установленных параметров с учетом главных осей – статистически достоверными:

$$\sigma_{11} : \sigma_{22} : \sigma_{33} = 1 : 0,5 : 0,61;$$

$$H_{11} : H_{22} : H_{33} = 1 : 0,71 : 0,76.$$

Структурно-функциональные изменения костной ткани с возрастом

Старение опорно-двигательного аппарата, как и всего организма в целом, отличается гетерохронностью, проявляющейся в неодинаковых структурных изменениях костей различной локализации. Это обстоятельство было учтено при изучении морфофункциональных особенностей костной ткани в возрастном аспекте. Для исследования были взяты идентичные по локализации образцы, полученные из функционально однотипных костей. Для объективизации изменений структуры костной ткани использованы методы световой, сканирующей электронной микроскопии, гистоморфометрии. В качестве критериев количественных изменений структуры костной

Таблица 2. Физико-механические характеристики костных образцов человека

Состояние образцов	$\sigma_{11} \pm \Delta\sigma_{11}$, МПа	$H_{11} \pm \Delta H_{11}$, МПа	$\rho \pm \Delta\rho$, г/см ³
Контроль	158 ± 2,3	372 ± 3,4	1,98 ± 0,003
Деорганифицированные (влажные)	10,7 ± 0,55	55 ± 2,55	1,84 ± 0,006
Высушивание при температуре +20 °С	63 ± 2,47	254 ± 5,79	1,4 ± 0,013
Высушивание при температуре +105 °С	71 ± 2,75	317 ± 9,2	1,32 ± 0,013

ткани были взяты морфометрические характеристики основных структурно-функциональных единиц – остеонных систем, тонко реагирующих на воздействие факторов экзо- и эндогенной природы (табл. 4). В различные возрастные периоды параметры остеонов претерпевают изменения, которые не имеют строгой закономерности, но их необходимо учитывать при интерпретации происходящих структурно-функциональных преобразований.

Изучение архитектоники кости с учетом различных уровней ее пространственной организации показывает, что она не является хаотичной. Формирующиеся на различных этапах остеогенеза системы каналов, лакун и канальцев, пор и пространств представляют собой объемную ориентированную систему внутрикостных пространств [12, 13], морфометрические характеристики которой зависят от возрастного фактора, видовых особенностей и физико-химического состояния костного вещества [1, 7, 14]. Наличие в кости – природном биокомпозите – такой системы позволяет использовать этот факт для различных целей. Во-первых – для обоснования

Таблица 3. Средние значения прочности при сжатии и микротвердости костных образцов различной ориентации

Вид	Состояние образцов (годы)	Ориентация образцов	n*	$\sigma \pm \Delta\sigma$, МПа	n	$H \pm \Delta H$, МПа
Человек	Нативные (19–44)	Продольная (X_1)	85	166 ± 2,5	133	379 ± 8,4
		Тангенциальная (X_2)	37	99 ± 4,4	25	309 ± 6,9
		Радиальная (X_3)	17	136 ± 8,8	25	333 ± 5,5
	Деминерализованные (19–44)	Продольная (X_1)	60	11,2 ± 0,58	–	–
		Тангенциальная (X_2)	40	10,9 ± 0,6	–	–
		Радиальная (X_3)	40	10,6 ± 0,68	–	–
	Деорганифицированные (19–44)	Продольная (X_1)	69	10,7 ± 0,55	47	55 ± 2,6
		Тангенциальная (X_2)	50	5,35 ± 0,43	40	39 ± 5,4
		Радиальная (X_3)	50	6,53 ± 0,59	40	42 ± 4,9
Бык	Нативные (1,5–2)	Продольная (X_1)	15	210 ± 7,1	40	430 ± 5,9
		Тангенциальная (X_2)	15	134 ± 8,1	35	341 ± 5,3
		Радиальная (X_3)	15	162 ± 8,9	35	369 ± 5,4

*n – количество образцов (измерений)

**Таблица 4.** Возрастные изменения параметров остеонов человека

Возрастная группа (годы)	Условный диаметр (средний), мкм		Расстояния между каналами остеонов, мкм	Средняя масса человека, кг
	остеон	центральный канал		
II (3–11)	115 ± 5,31	29 ± 1,55	110 ± 3,86	15–35
III (12–18)	120 ± 3,97	30 ± 1,15	122 ± 4,33	35–65
IV (19–44)	151 ± 4,94	44 ± 2,89	121 ± 4,48	65–80
V (45–59)	168 ± 4,74	33 ± 0,71	143 ± 4,12	70–80
VI (60–74)	146 ± 4,79	31 ± 1,44	104 ± 4,58	70–75
VII (75–89)	149 ± 5,07	59 ± 3	115 ± 4,52	70–75

Таблица 5. Возрастные особенности физико-механических характеристик костной ткани человека с учетом композиционного состава

Возрастная группа (годы)	Содержание, % по массе			$\sigma_{11} \pm \Delta\sigma$, МПа	$H_{11} \pm \Delta H_{11}$, МПа
	вода (свободная)	минеральная фаза	органическая фаза + вода (связанная)		
II (3–11)	21,52 ± 0,65	58,84 ± 1,18	19,64	128 ± 2,5	280 ± 2,2
III (12–18)	19,6 ± 0,59	58,95 ± 1,77	21,45	148 ± 2,8	333 ± 4,8
IV (19–44)	10,2 ± 0,36	62,1 ± 0,61	27,7	166 ± 4,5	383 ± 6,9
V (45–59)	10,9 ± 0,38	62,8 ± 2,51	26,3	161 ± 3,5	374 ± 7,7
VI (60–74)	11,6 ± 0,35	61,9 ± 1,86	26,5	155 ± 2,3	365 ± 4,2
VII (75–89)	10,3 ± 0,31	64,4 ± 0,57	25,3	142 ± 2,5	360 ± 4,2

Таблица 6. Значения микротвердости и содержания минерального компонента в различных костях человека (мужчины IV возрастной группы)

Исследованная кость	n*	$H_{11} \pm \Delta H_{11}$, МПа	n	Содержание минерала, % по массе
Бедренная	133	379 ± 8,3	16	62,1 ± 0,61
Большеберцовая	15	382 ± 7,1	8	61,01 ± 1,04
Нижнечелюстная	20	370 ± 12	8	60,5 ± 2,14
Малоберцовая	15	355 ± 14	8	60,01 ± 2,01
Ребро	80	280 ± 12	8	50 ± 2,47
Позвонок	15	72 ± 3,2	8	19,48 ± 0,97

*n – количество измерений

специфических морфомеханических проявлений в зависимости от величины внешних нагрузок: при физиологических напряжениях система внутрикостных пространств выполняет защитно-компенсаторную функцию, препятствуя распространению единично возникающих трещин, а с повышением нагрузок выше физиологических становится зоной концентрации напряжений и развития магистральных трещин, которые могут вызвать серьезные разрушения структуры кости. Во-вторых – при создании новых лекарственных форм, когда костная ткань может выполнять функцию носителя лекарственных препаратов.

Своеобразие структуры и композиционного состава кости в различные возрастные периоды отвечает характер изменений ее прочностных (σ_{11}) и упруго-пластических (H_{11}) свойств (показателя микротвердости) в продольном направлении (табл. 5).

Морфомеханический анализ костей человека различной локализации

В зависимости от локализации и костно-суставном аппарате кости человека и животных испытывают различный уровень функциональных нагрузок [1], которому соответствует степень минерализации кости. Это определяет и значения механических параметров на макро- и микроуровне их регистрации. Результаты определения микротвердости и степени минерализации образцов, взятых из костей различной локализации у мужчин IV возрастной группы, свидетельствуют о наличии корреляции между структурой, композиционным составом кости, ее функцией в скелете и механическими параметрами (табл. 6).

Значение биоэлементологии для изучения биофизических свойств костной ткани

В рамках рассматриваемой проблемы представляет интерес использование результатов фундаментальных и прикладных исследований в области такого интегративного и системного научного направления, как биоэлементология. Она является важной составляющей наук о жизни и служит связующим звеном между химией и биохимией, физикой и биофизикой, другими естественнонаучными дисциплинами.

Использование разработанных в биоэлементологии методик позволяет получать объективную информацию об элементном статусе человека и применять полученные с помощью многоэлементного анализа волос и других био-



субстратов данные при диагностике физиологического состояния, оценке нарушений здоровья с целью последующей коррекции возникших изменений, а также для разработки эффективных мероприятий профилактического характера. Решение обозначенных задач во многом затруднено ввиду отсутствия достаточной информации об особенностях взаимодействия лекарственных препаратов с различными тканями, органами и организмом человека в целом, что указывает на особую важность исследований в сфере биоэлементологии для разработки новых лекарств. Это подтверждает и известное утверждение профессора А. Бюргера: «Если бы мы имели хотя бы отдаленное представление о взаимодействии препаратов с химическими компонентами организма, нам покорились бы почти все проблемы химии лекарств».

Особо следует подчеркнуть актуальность таких исследований для решения проблем биоимплантологии. Проведенные авторами многочисленные исследования по созданию новых видов пластического материала для реконструктивно-восстановительных операций в травматологии, ортопедии, челюстно-лицевой хирургии позволяют сделать вывод о необходимости и целесообразности использования методов биоэлементологии в практике тканевых банков как на начальном этапе отбора биологических тканей, так и на последующих стадиях изготовления, стерилизации, консервации, хранения имплантатов. Важная информация о структурно-функциональном и композиционном состоянии фрагментов биоимплантатов может быть получена и при опосредованном контроле растворов, контактирующих с тканями на различных этапах технологического процесса изготовления (деминерализация, деорганификация, дегидратация и др.).

Заслуживают внимания исследования с позиций биоэлементологии, позволяющие осуществлять комплексное изучение новых лекарственных форм, в которых биологические ткани выступают носителями лекарственных препаратов. Благодаря полученным при этом данным становится возможным не только оптимизировать технологии конструирования новых лекарственных форм, но и обеспечить более эффективную доставку лекарственных средств к органам-мишеням.

Заключение

Представленные данные комплексного структурно-функционального анализа говорят о том, что костная ткань с позиций биоматериаловедения

относится к анизотропным природным биокompозитам. Особенности архитектоники – ориентация остеонов, пластинчатых структур, минерализованных волокон коллагена в направлении преимущественного действия физиологических нагрузок – обуславливают гетерогенность механических свойств компактного вещества кости в направлении главных осей анизотропии. Она выступает проявлением структурно-функциональной адаптации кости. Анизотропия свойственна кости как композиту, присуща основным фазам ее развития и сохраняется независимо от изменения композитности материала при различных физико-химических воздействиях.

При изготовлении костных имплантатов необходимо иметь в виду, что их физико-механические характеристики являются интегральным выражением морфомеханического статуса костей скелета с учетом уровня их структурной организации, действующих функциональных нагрузок и композиционного состава костной ткани.

Полученные результаты позволяют разработать практические рекомендации, которые необходимо учитывать при выборе костных фрагментов для изготовления имплантатов:

- необходимо не только оценивать их внешнее состояние (наличие видимых разрушений, трещин), но и следить за отсутствием микро-разрушений костного вещества;
- принимая во внимание выявленные закономерности изменения макро- и микроструктуры, физико-механических характеристик и состава костной ткани в исследованном возрастном диапазоне, оптимальным следует считать использование костных фрагментов зрелой кости (IV возрастная группа – от 19 до 44 лет), для которой средняя величина объемной массы составляет $1,8-1,95 \text{ г/см}^3$, предел прочности при сжатии образцов продольной ориентации (вдоль оси остеонов) – $165 \pm 5 \text{ МПа}$, величина микротвердости – $380 \pm 10 \text{ МПа}$, содержание минеральной и органической фаз – около 62 и 28% соответственно.

Проведенные исследования свидетельствуют о важности дальнейшей разработки и экспериментальной апробации инновационных методов для совершенствования здоровьесберегающих технологий. Это указывает на необходимость и целесообразность объединения усилий представителей различных направлений науки для более эффективного решения актуальных проблем в данной области. ©



Литература

1. Денисов-Никольский ЮИ, Миронов СП, Омеляненко НП, Матвейчук ИВ. Актуальные проблемы теоретической и клинической остеоартрологии. М.: Типография «Новости»; 2005. 336 с.
2. Розанов ВВ. Высокоэнергетическое гидродинамическое воздействие на биологические ткани – новая перспективная биомедицинская технология. Научные технологии. 2003;(6):35–43.
3. Розанов ВВ, Денисов-Никольский ЮИ, Матвейчук ИВ, Ложкин ОВ, Эйхенвальд ЭВ, Осипенкова ТК, Омеляненко НП, Северин АЕ. Гидродинамические технологии в биологии и медицине. Технологии живых систем. 2005;2(4–5):28–40.
4. Пантелеев ВИ, Розанов ВВ, Матвейчук ИВ, Лекишвили МВ, Сысоев НН, Шутеев СА, Альков СВ, Андреева ТМ. Медицинские озонные технологии: новые задачи, возможности, оборудование. Биомедицинская радиоэлектроника. 2013;(2):3–11.
5. Денисова ЛА, Маев РГ, Денисов-Никольский ЮИ, Матвейчук ИВ, Денисов АА. Основы применения акустической микроскопии в медико-биологических исследованиях: учебное пособие. М.: НИЦ БМТ; 2002. 62 с.
6. Матвейчук ИВ. Изготовление образцов для механических испытаний кости с помощью полого сверла. Механика композитных материалов. 1980;(1):155–8.
7. Матвейчук ИВ. Биомеханические подходы к изучению морфофункциональных особенностей кости с целью создания ее синтетического аналога. В: Биомедицинские технологии: сборник научных трудов. Вып. 5. М.: НИЦ БМТ; 1996. с. 15–22.
8. Матвейчук ИВ. Изучение системы внутрикостных пространств с позиций биоматериаловедения и его прикладное значение. В: Биомедицинские технологии: сборник научных трудов. Вып. 9. М.: НИЦ БМТ ВИЛАР; 1998. с. 54–8.
9. Матвейчук ИВ, Денисов-Никольский ЮИ. Региональные особенности механических характеристик компактного вещества бедренной кости. В: Проблемы инженерной биомедицины. Труды МВТУ № 433. М.; 1985. с. 65–78.
10. Быков ВА, Розанов ВВ, Матвейчук ИВ, Пантелеев ВИ, Шутеев СА, Литвинов ЮЮ, Воротников АИ. Способ изготовления костных имплантатов. Патент РФ № 2526429 от 20 августа 2014 г.
11. Степнов МН. Статистическая обработка результатов механических испытаний. М.: Машиностроение; 1972. 232 с.
12. Матвейчук ИВ, Розанов ВВ, Денисов-Никольский ЮИ. Сравнительная структурно-функциональная характеристика костных алло- и ксеноимплантатов. Технологии живых систем. 2013;10(8):25–30.
13. Денисов-Никольский ЮИ, Матвейчук ИВ, Розанов ВВ. Инновационные подходы к структурно-функциональному анализу костной ткани для решения фундаментальных и прикладных задач в биоматериалологии и биоматериаловедении. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012;(1):223–8.
14. Луньков АЕ. Порометрические методики морфометрии костной ткани. Саратов: Изд-во Саратовского медицинского университета; 2015. 120 с.

References

1. Denisov-Nikol'skiy Yul, Mironov SP, Omel'yanenko NP, Matveychuk IV. Aktual'nye problemy teoreticheskoy i klinicheskoy osteoartrologii [Actual problems of theoretical and clinical osteoarthrology]. Moscow: Tipografiya "Novosti"; 2005. 336 p. (in Russian).
2. Rozanov VV. Vysokoenergeticheskoe gidrodinamicheskoe vozdeystvie na biologicheskie tkani – novaya perspektivnaya biomeditsinskaya tekhnologiya [High-energy hydrodynamic effects on biological tissues – a promising new biomedical technology]. Nauchnye tekhnologii [High technologies]. 2003;(6):35–43 (in Russian).
3. Rozanov VV, Denisov-Nikol'skiy Yul, Matveychuk IV, Lozhkin OV, Eykhenval'd EV, Osipenkova TK, Omel'yanenko NP, Severin AE. Gidrodinamicheskie tekhnologii v biologii i meditsine [The hydrodynamic technologies in the biology and medicine]. Tekhnologii zhivykh system [Living system technologies]. 2005;2(4–5):28–40 (in Russian).
4. Panteleev VI, Rozanov VV, Matveychuk IV, Lekishvili MV, Sysoev NN, Shuteev SA, Al'kov SV, Andreeva TM. Meditsinskie ozonovye tekhnologii: novye zadachi, vozmozhnosti, oborudovanie [Medical ozone technologies: new problems, possibilities, equipment]. Biomeditsinskaya radioelektronika [Biomedical Radioelectronics]. 2013;(2):3–11 (in Russian).
5. Denisova LA, Maev RG, Denisov-Nikol'skiy Yul, Matveychuk IV, Denisov AA. Osnovy primeneniya akusticheskoy mikroskopii v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh: uchebnoe posobie [Fundamentals of application of acoustic microscopy in biomedical research]. Moscow: NITs BMT; 2002. 62 p. (in Russian).
6. Matveychuk IV. Izgotovlenie obraztsov dlya mekhanicheskikh ispytaniy kosti s pomoshch'yu pologo sverla [Production of samples for mechanical testing of bones by means of a hollow drill]. Mekhanika kompozitnykh materialov [Mechanics of Composite Materials]. 1980;(1):155–8 (in Russian).
7. Matveychuk IV. Biomekhanicheskie podkhody k izucheniyu morfofunktsional'nykh osobennostey kosti s tsel'yu sozdaniya ee sinteticheskogo analoga [Biomechanical approaches to the study of morphological and functional characteristics of the bone in order to create its synthetic analogue]. In: Biomeditsinskie tekhnologii: sbornik nauchnykh trudov [Biomedical technologies: Proceedings of Scientific Centre "Biomedical technologies"]. Issue 5. Moscow: NITs BMT; 1996. p. 15–22 (in Russian).
8. Matveychuk IV. Izucheniye sistemy vnutrikostnykh prostranstv s pozitsiy biomaterialovedeniya i ego prikladnoye znachenie [The study of intracosseous spaces from the stand point of biomaterials science and its applied significance]. In: Biomeditsinskie tekhnologii: sbornik nauchnykh trudov [Biomedical technologies: Proceedings of Scientific Centre "Biomedical technologies"]. Issue 9. Moscow: NITs BMT VIILAR; 1998. p. 54–8 (in Russian).
9. Matveychuk IV, Denisov-Nikol'skiy Yul. Regional'nye osobennosti mekhanicheskikh kharakteristik kompaktnogo veshchestva bedrennoy kosti [Regional features of the mechanical characteristics of the compact substance of the femur]. In: Problemy inzhenernoy biomeditsiny. Trudy MVTU [Problems of Biomedical Engineering: Proceedings of Bauman Moscow Higher Technical School]. Issue 433. Moscow; 1985. p. 65–78 (in Russian).
10. Bykov VA, Rozanov VV, Matveychuk IV, Panteleev VI, Shuteev SA, Litvinov YuYu, Vorotnikov AI. Sposob izgotovleniya kostnykh implantatov [A method for manufacturing of bone implants]. Patent No. 2526429 RU from 20.08.2014 (in Russian).
11. Stepnov MN. Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov mekhanicheskikh ispytaniy [Statistical treatment of the mechanical tests results]. Moscow: Mashinostroenie; 1972. 232 p. (in Russian).
12. Matveychuk IV, Rozanov VV, Denisov-Nikol'skiy Yul. Sravnitel'naya strukturno-funktsional'naya kharakteristika kostnykh allo- i ksenoimplantatov [Comprehensive structural and functional characterization of bone allograft implants and xenomaterials]. Tekhnologii



zhivyykh system [Living system technologies]. 2013;10(8):25–30 (in Russian).

13. Denisov-Nikol'skiy Yul, Matveychuk IV, Rozanov VV. Innovatsionnye podkhody k struktural'no-funktsional'nomu analizu kostnoy tkani dlya resheniya fundamental'nykh i prikladnykh zadach v bioimplantologii i biomate-

rialovedenii [Innovative approaches to the structural and functional analysis of bone tissue for to solving of fundamental and applied problems in bioimplantology and biomaterials science]. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii [Problems of Biological Medical and Pharma-

ceutical Chemistry]. 2012;(1):223–8 (in Russian).

14. Lun'kov AE. Porometricheskie metodiki morfometrii kostnoy tkani [Poros investigation methods for bone tissue morphometry]. Saratov: Saratov State Medical University; 2015. 120 p. (in Russian).

Evaluation of biophysical properties of the bone tissue for biomedical applications

Matveychuk I.V.¹ • Rozanov V.V.^{1,2} • Litvinov Yu.Yu.¹

Background and aim: The volume of reconstructive surgery in traumatology in recent decades has increased significantly due to an increase in traumas, numbers of affected in local military conflicts, and environmental deterioration. This has led to an increase in demand for plastic materials, and the need to create modern high technologies to meet this need, including alternative sources of bone implants. Any solution to this problem would involve an in-depth study of bone biophysical properties with innovative techniques to develop requirements to elaboration of new effective implants based on natural bone, as well as on natural or synthetic analogues. This study aimed exactly at these aspects. **Materials and methods:** We studied human bone samples taken from various parts of the skeleton aged from 3 to 89 years and animal (bovine) bone samples aged from 1.5 to 2 years. Biophysical characteristics of the studied materials were assessed at the stage of sample preparation with original author's methods of physical and mechanical processing, in the process of analysis of patterns of normal changes in the bone structure and function, as well as during changes in its composition with age, anisotropy of the material and the level of structural organization. Structure patterns were studied by classical (light, scanning electron microscopy) and advanced (acoustic microscopy) techniques. Methods of engineering biomechanics were used to assess functional changes in macro and micro volumes of bone samples. **Results:** The main study results involve the development of innovative methods of sample preparation and structural and functional analysis. First of all, these are the methods of mechanical processing of bone fragments based on the use

of hollow cylindrical milling cutters in the environment of limited amounts of mineralized biological tissues, as well as on the application of hydrodynamic cutting ensuring a delicate and highly efficient bone cut. Another distinctive feature of the study is the elaborated methodology for morphological and mechanical analysis of bone samples at the macro and micro levels, with consideration of real physical and chemical condition of samples. To ensure sample sterility, the authors proposed innovative techniques using of ozone-oxygen mixtures. The study results gave a complex of quantitative characteristics describing age-related compositional changes of the human bone, anisotropy of its physical and mechanical characteristics, osteon parameters and physical and mechanical characteristics of bone tissue depending on its composition. **Conclusion:** The use of the proposed methodology allowed for obtaining of new data on biophysical properties of bone tissue that are of interest for bioimplantology, biomaterial science and expands basic information on the bone as a natural biocomposite. They can be the basis for development of practical guidelines on optimization of the choice of bone fragments for manufacture of implants based on the detected patterns of changes in macro- and microstructure, physical and mechanical characteristics and bone composition in the studied age range.

Key words: bone tissue, physical and mechanical characteristics, bioimplant, methods of sample preparation, hollow cylindrical milling cutters, hydrodynamic cutting of biologic tissues

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-2-193-202

Matveychuk Igor V. – PhD, Doctor of Science in Biology, Professor, Head of Scientific and Educational-methodic Centre of Biomedical Technologies¹
✉ 2 Krasina ul., Moscow, 123056, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 254 46 49.
E-mail: nizbmtvilar@mtu-net.ru

Rozanov Vladimir V. – PhD in Physics, Doctor of Science in Biology, Head of Laboratory, Scientific and Educational-methodic Centre of Biomedical Technologies¹; Leading Research Fellow, Scientific Centre of Hydro-physics Researches, Professor of the Department of Accelerators Physics and Radiation Medicine, Faculty of Physics²
✉ Faculty of Physics MSU, 1/2 Leninskie gory, Moscow, 119991, Russian Federation.
Tel.: +7 (495) 939 24 44. E-mail: vrozanov@mail.ru

Litvinov Yury Yu. – Deputy Head of Scientific and Educational-methodic Centre of Biomedical Technologies¹

¹ Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants; 7 Grina ul., Moscow, 117216, Russian Federation

² Lomonosov Moscow State University; 1 Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russian Federation