

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

*На правах рукописи*



**Николаева Надежда Анатольевна**

**Комбинированные радиационные технологии для стерилизации  
и консервации ископаемых биообъектов**

1.5.1. Радиобиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Москва – 2024

Работа выполнена на кафедре физики ускорителей и радиационной медицины физического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» и на кафедре теоретической физики физико-технического института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова».

**Научные руководители** – **Розанов Владимир Викторович**, доктор биологических наук, доцент

**Черняев Александр Петрович**, доктор физико-математических наук, профессор

**Официальные оппоненты** – **Тихонов Алексей Николаевич**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Зоологического института Российской академии наук.

**Гольцов Алексей Николаевич**, доктор физико-математических наук, доцент, профессор кафедры биокибернетических систем и технологий Института искусственного интеллекта Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский технологический университет (МИРЭА)».

**Сушкова Людмила Тихоновна**, доктор технических наук, профессор кафедры электроники, приборостроения и биотехнических систем, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых».

Защита диссертации состоится «23» октября 2024 г. в 16 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.014.6 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1 стр. 10, ауд.308.

Е-mail: [severin@radio.chem.msu.ru](mailto:severin@radio.chem.msu.ru) (А.В. Северин, ученый секретарь диссертационного совета МГУ.014.6), [larsoon696@mail.ru](mailto:larsoon696@mail.ru) (Н.А. Николаева, соискатель).

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3105>

Автореферат разослан «20» сентября 2024 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат химических наук



А.В. Северин

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Республика Саха (Якутия) входит в Арктическую зону Российской Федерации (АЗ РФ) как геостратегическая территория с экстремальными природно-климатическими условиями и высокой чувствительностью экосистем, что способствуют возникновению различных рисков. Уникальность этих территорий определяется тем, что в Якутии обнаружено более 80% останков мамонтовой фауны мира [1], в том числе, около 70% мировых запасов мамонтовой кости и останков других древних животных. В целях развития научного изучения объектов историко-культурного наследия Правительствами РФ и регионов АЗ РФ разработан ряд нормативно-правовых актов [2-7]<sup>1</sup>, в том числе «Стратегия развития АЗ РФ» [3]. Планируется реализация проекта «Всемирный Центр мамонта» на территории Якутии. Концепция Центра включает обеспечение условий для консервации замороженных мумий, бивней, костных останков, организации выставок, анатомических и морфологических исследований. В связи с этим, актуализируется проблема долговременного и безопасного хранения останков мамонтовой фауны, в том числе костной ткани. Сохранение исторического и образовательно-культурного наследия является мировой проблемой. Один из важных ее аспектов – работа с ископаемыми биообъектами в связи с их культурной, исторической и научной ценностью. Изучение палеонтологических находок расширяет наши знания об историческом периоде мамонтовой фауны и его месте в эволюционном процессе. Научная значимость этих исследований определяется совокупностью новых знаний в палеонтологии, биологии, микробиологии и др., получаемых с помощью современных физических, химических, биологических экспериментальных методик, приборов и оборудования.

Вместе с тем, следует особо подчеркнуть, что обнаружение большого количества древних останков в результате оттаивания многолетнемерзлых грунтов сопровождается появлением большого количества древних бактерий и вирусов, бесконтрольно попадающих в окружающую среду. Данные микроорганизмы могут выживать и существовать при низких температурах (например, после консервации в мерзлоте более 40000 лет) [8]. Экспериментальные данные исследований последних лет показывают, что не только вирусы и бактерии, но и такие «высокоорганизованные» организмы как нематоды могут оставаться жизнеспособными в течение длительного периода времени (более 46000 лет) в состоянии анабиоза в мерзлоте [9]. Это подтверждает актуальность и практическую значимость разработки технологии стерилизации ископаемых биообъектов для обеспечения необходимого уровня безопасности при работе с древними останками и создании условий для их долговременного хранения и изучения.

Большинство традиционных методов стерилизации: химическая, термообработка, стерилизация газом (окись этилена) не подходят для материалов, чувствительных к высоким температурам и токсичным веществам. Во многих музеях России и мира применяются компоненты химической стерилизации (требуются дополнительные меры, например, аэрация для удаления газа), обычно загрязняющие окружающую среду и способствующие разрушению самого материала. Наиболее перспективной технологией для стерилизации и сохранения объектов культурного наследия является обработка посредством ионизирующего излучения.

---

<sup>1</sup> Распоряжение Правительства РФ от 15.04.2021 N 996-р (ред. от 09.12.2023) «Об утверждении Единого плана мероприятий по реализации Основ государственной политики Российской Федерации в Арктике на период до 2035 года и Стратегии развития Арктической зоны Российской Федерации и обеспечения национальной безопасности на период до 2035 года».

Для радиационной стерилизации древних останков обычно применяют гамма-излучение и пучки быстрых электронов с величиной поглощенной дозы от 20 кГр. Впервые радиационная обработка останков мамонтовой фауны проведена в 2010 г. для мамонтенка Хромы [10]. Однако, при облучении с поглощенной дозой (20 кГр и более) в материале наблюдаются структурные изменения и повреждения, что приводит к потере необходимой информации о биообъектах и снижению их структурно-функциональных свойств. Решение проблемы радиационно-индуцированных изменений и снижение величины поглощенной дозы с одновременным сохранением структуры и физических свойств материала возможно при использовании технологии комбинированной радиационной стерилизации. Такая технология с использованием озono-кислородной смеси на первом этапе стерилизации и радиационным облучением на втором этапе, разработанная на кафедре физики ускорителей и радиационной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова при участии специалистов Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР), позволила достичь необходимой степени стерильности костных образцов (на примере костных имплантатов) при величине поглощенной дозы 11-12 кГр с сохранением основных характеристик костной ткани [11].

Вместе с тем, в предыдущем цикле исследований не был изучен ряд важных физических, морфологических, методических и других вопросов, связанных с селективным воздействием отдельных факторов и их комбинации на свойства и характеристики костного материала. В связи с этим актуальным является продолжение и развитие цикла исследований по комбинированной радиационной стерилизации биообъектов и подтверждение возможности ее применения для стерилизации и консервации ископаемых биообъектов.

**Целью** данной работы является разработка физико-технического обоснования возможности применения комбинированных радиационных технологий для стерилизации и консервации ископаемых биообъектов. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Провести лабораторные исследования возможных изменений свойств и характеристик костных фрагментов при селективных и комбинированных воздействиях: 1) озono-кислородной смеси и 2) радиационного воздействия (ускоренные электроны) при различных значениях дозы.

2. Провести экспериментальные исследования изменения морфо-механических характеристик и элементного состава поверхности костных материалов в результате селективного и комбинированного воздействия озона и радиации.

3. Осуществить экспериментальные (с использованием ИК-спектроскопии) и модельные исследования возможного влияния селективной и комбинированной радиационной стерилизации на сохранность костного коллагена.

4. На основании полученных экспериментальных данных и результатов осуществленных модельных оценок выработать практические рекомендации по возможности и оптимизации применения комбинированной радиационной технологии для ископаемых биообъектов.

**Объект исследования.** Объектом исследования являлись образцы костной ткани быка и мамонтовой кости. Проводилось изучение закономерности изменений характеристик поверхности образцов после воздействий ионизирующего излучения, озонной стерилизации в зависимости от параметров процесса обработки (величина дозы, время воздействия, концентрация и т.д.) и комбинированной радиационной стерилизации.

**Методология и методы исследования.** Основные результаты, представленные в диссертационной работе, получены с помощью экспериментальных исследований и модельных оценок. В работе использовались современные инструментальные методы анализа (растровая электронная микроскопия, ИК-спектроскопия и др.) для визуализации и изучения образцов. Морфологию поверхности костных образцов изучали с помощью растрового электронного микроскопа с насадкой для элементного анализа JEOL JSM-7800F (Япония). Исследование содержания коллагена были проведены с использованием инфракрасного спектрометра с преобразованием Фурье Varian 7000 FTIR. Исследования механических характеристик поверхности костных образцов включали измерение микротвердости по Виккерсу с помощью микротвердомера DM8 (Италия). Значение концентрации озона фиксировалось с помощью измерителя ИКО-50 (Россия). Герметичная упаковка костных образцов осуществлялась с использованием двухслойной термопленки на запаивающем аппарате F70-400 (Нидерланды) [12]. При интерпретации некоторых результатов, использованы расчетные методы математического моделирования для анализа характеристик образцов после воздействия озона и радиации. Проведены микробиологические исследования для оценки эффективности предложенного метода стерилизации для останков мамонтовой фауны. Радиационную обработку образцов проводили на линейном ускорителе электронов непрерывного действия с энергией 1 МэВ (Институт ядерной физики МГУ им. М.В. Ломоносова).

**Научная новизна.** В результате проведенных исследований в работе впервые:

1. Обоснована перспективность метода комбинированной стерилизации для биообъектов и сформулированы практические рекомендации. Применение комбинированной радиационной технологии позволяет сохранить структурно-функциональные, морфологические и механические характеристики костной ткани древних ископаемых материалов, что расширяет возможности исследования и консервации останков мамонтовой фауны.
2. Показано, что селективное озоновое воздействие и его сочетание с последующей радиационной обработкой в выбранном диапазоне параметров не оказывают влияния на механические характеристики и морфологию поверхности костного материала. При этом изменяется элементный состав, в частности, существенно возрастает содержание кислорода.
3. Установлено, что предложенная технология стерилизации обеспечивает сохранность костного коллагена в костных фрагментах мамонтовой фауны. Дано модельное обоснование структурного изменения костного коллагена при увеличении дозовой нагрузки.

**Практическая значимость работы**

1. Дано физико-техническое обоснование возможности применения комбинированных радиационных технологий для стерилизации и консервации ископаемых биообъектов. Предлагаемая методика может применяться для увеличения срока сохранности ископаемых биообъектов и снижает риск возникновения радиационно-индуцированных повреждений.
2. Разработанные практические рекомендации для обработки биообъектов позволяют повысить эффективность метода стерилизации (при величине поглощённой дозе менее 15 кГр) и обеспечить стерильность образцов, сохраняя нативные свойства и характеристики костного материала, что представляет особую ценность для использования в Музее Мамонта, Всемирном Центре Мамонта и др.
3. Результаты, полученные в ходе проведенных экспериментов, дают научное знание и новую информацию о строении и составе ископаемого костного материала и вносят вклад в

базу данных о палеонтологических останках, способствуют развитию междисциплинарных областей исследования.

4. Определены оптимальные условия применения комбинированной технологии стерилизации (озоно-кислородная смесь с концентрацией 6-8 мг/л с продолжительностью воздействия 15-20 мин., радиационная обработка с величиной поглощенной дозы до 15 кГр) для ископаемых биообъектов.

5. Выводы настоящего исследования могут быть рекомендованы для применения и корректировки параметров селективной озоновой и комбинированной радиационной стерилизации в других областях (стерилизация биоимплантатов и др.).

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Использование комбинированной технологии (озон + радиация) стерилизации ископаемых костных образцов позволяет в максимальной степени сохранить нативные свойства и характеристики костного материала и при этом обеспечить безопасность последующих контактов и работы исследовательского персонала.

2. Как селективное, так и сочетанное воздействие компонентов комбинированной радиационной технологии стерилизации (озоно-кислородная смесь с концентрацией 6-8 мг/л с продолжительностью воздействия 15-20 мин и радиационная обработка с величиной поглощенной дозы до 15 кГр) не приводят к морфологическим и механическим изменениям костных структур.

3. Селективное озоновое воздействие в указанном диапазоне параметров приводит к повышению содержания кислорода в поверхностном слое костного образца, что за счет кислородного эффекта способствует повышению эффективности последующей радиационной обработки при возможной модификации радиочувствительности бактерий.

4. Использование комбинированной радиационной технологии (озон + радиация) позволяет уменьшить величину поглощенной дозы, что обеспечивает сохранность остаточного костного коллагена, структурно-функциональных, морфологических и механических характеристик образцов, что расширяет возможности исследования ископаемых костных материалов и их комплексного использования при осуществлении федеральных и региональных Программ по якутскому мамонту и других аналогичных Программ.

**Степень достоверности научных результатов.** Достоверность представленных в работе результатов и выводов обеспечивается применением апробированных методик экспериментальных исследований, современных приборов и оборудования, а также методов модельных расчетов.

**Личный вклад автора** состоит в анализе литературных источников по теме диссертации, подборе методик инструментального анализа, участии в проведении междисциплинарных экспериментов, обработке, анализе и апробации результатов на научных конференциях, представлении докладов (устных и стендовых), подготовке публикаций по теме диссертации. Автором был разработан проект (№ FSRG-2021-0014), который выиграл федеральный конкурс Минобрнауки по созданию лабораторий «Радиационные технологии» (ФТИ Северо-Восточного федерального университета) и «Электронные пучки и радиационная терапия» (Якутский республиканский онкологический диспансер).

**Апробация результатов.** Основные результаты исследования (в период с 2019 по 2024 гг.) докладывались на 20 международных и всероссийских конференциях:

International Conference on Radiation Applications (Афины, Греция, 2023);  
Международная конференция по ядерной физике «NUCLEUS – 2019, 2020, 2022, 2023, 2024:

Fundamental problems and applications» (Дубна 2019 и др.); XXIV Научная школа-конференция «Концентрированные потоки энергии в космической технике, электронике, экологии и медицине – 2023»; Международная конференция 10th International Conference on Mathematical Modeling (Якутск, 2023); IV Национальный конгресс по регенеративной медицине (Москва, 2019), Конгресс «Онкорadiология, Лучевая диагностика и терапия – 2019»; Конференция с международным участием «Интеграция наук: междисциплинарность в медицине» (Якутск, 2022); Международная научная конференция «Радиобиология: современные проблемы – 2019, 2020» (Гомель 2019, 2020); «Ядерные технологии: от исследований к внедрению – 2019»; «Медико-технические технологии на страже здоровья – 2019»; Конференция с международным участием «Современные аспекты травматологии, ортопедии и реконструктивной хирургии» (г. Астрахань, 2019); Конференция «XXV Лаврентьевские чтения», «Республиканская научно-практическая конференция: Аммосов 2022»; «Интеграция наук 2022»; «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» 2019, 2023; «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии ФРЭМЭ'2020» (Россия, 2020); VII Троицкая конференция с международным участием «Медицинская физика» (г. Троицк, 2020) и др.

**Публикации.** Основные результаты по теме исследования изложены в 14 печатных изданиях, в том числе в 9 статьях, опубликованных в журналах, индексируемых в базах данных Scopus, Web of Science, RSCI.

**Соответствие паспорту научной специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.1. Радиобиология по области исследований: 4. Медико-биологические последствия действия радиации и разработка методов их минимизации. 7. Проблема радиационной чувствительности биологических объектов. Модификация радиочувствительности.

**Исследования поддержаны** грантами Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках проектов: «Разработка и внедрение новых комплексных подходов исследования актуальных задач медицины с применением методов спектроскопии, микроскопии, радиационной биофизики и математического моделирования» (номер стипендии: СП – 3531.2021.4); «Разработка и внедрение новых комплексных подходов исследования актуальных задач медицины, сельского хозяйства, промышленности, в том числе, обработки драгоценных камней, а также палеонтологии, биологии, вирусологии с применением методов спектроскопии, микроскопии и радиационных технологий» (номер проекта: FSRG – 2021 – 0014). Диссертантом разработан проект открытия молодежной лаборатории «Радиационные технологии ФТИ СВФУ» в рамках Научно-образовательного центра «Север – территория устойчивого развития», проект был поддержан грантом Минобрнауки в 2021 г. и продлен в 2024 г. Диссертант является получателем Стипендии Президента РФ, проект основан на теме диссертации.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из введения, трех глав и заключения. Полный объем диссертации составляет 138 страниц текста с 47 рисунками и 23 таблицами. Список литературы содержит 175 наименований.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обосновывается актуальность исследования по теме диссертации, формулируется цель работы, постановка задачи, научная новизна, практическая значимость и достоверность результатов, описывается личный вклад автора, приводится список публикаций и докладов на конференциях, на которых были представлены результаты

выполненных исследований, приводится структура и краткое содержание диссертации.

**В первой главе** проведен обзор и анализ научных литературных данных о современном состоянии исследований по теме диссертации, исследованиях мамонтов и древних ископаемых, бактерий и других патогенов, выделенных из останков мамонтовой фауны и мёрзлых толщ в Республике Саха (Якутия). Рассмотрены основные методы стерилизации биообъектов и предметов биомедицинского назначения. Основное внимание уделено радиационным методам, их преимуществам и перспективам использования. Проанализированы сложности, ограничения и побочные эффекты, связанные с радиационной стерилизацией, а также проблемы стерилизации объектов культурного наследия.

В условиях глобального потепления при обрушении берегов (изменения климата на северо-арктических территориях) обнажаются останки древних животных, скотомогильники, где захоронены умершие вследствие вспышек особо опасных заболеваний и возбудителей болезней животные. Общеизвестно, что патогены обитают в окружающей среде, в т.ч. в криолитозоне, а также в палеонтологических останках мамонтовой фауны (*Pseudomonadales*, *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp и др.). Некоторые микроорганизмы являются жизнеспособными даже после долгого нахождения в “вечной” мерзлоте. Например, микробиологическое тестирование мамонтенка Хрома показало, что он содержит древние микробы (предположение о сибирской язве). В 2023 году найдены грибковые колонии, характерные для артефактов, на мумиях из музея города Гуанахуато Известны случаи смертельного исхода при заражении грибами после контакта с мумиями. В целях консервации останков мамонтовой фауны и в рамках развития инфраструктуры строительство Всемирного Центра мамонта утверждено распоряжением Правительства РФ. В мире до сих пор не существует единой методики стерилизации и консервации останков мамонтовой фауны, а применяемые технологии (химические, термические и др.) для обработки и мониторинга приводят к значительной потере информации и разрушению сохранившихся останков. В связи с чем, необходимо разработать методику и практические рекомендации для стерилизации палеонтологических находок в целях обеспечения безопасности и создания условий для их хранения и консервации, поскольку инфекционное заражение и присутствие микроорганизмов на палеонтологических находках ускоряет деградацию их структуры и представляет опасность для здоровья окружающих.

Для объектов культурного наследия обычно применяют: гамма-излучение (дозы 20-40 кГр) и пучки быстрых электронов. Первым опытом радиационной стерилизации ископаемых останков мамонтовой фауны было облучение останков мамонтенка Хрома гамма-излучением с величиной поглощенной дозы 20 кГр [10]. Бактерицидное действие излучения инактивирует микробы и способствует ограничению механизмов распада мягких тканей, которые запускаются при оттаивании. Тем не менее, результаты исследования мамонтенка Хрома показали, что применение гамма-облучения с поглощенной дозой (20 кГр) вызвало структурные повреждения, морфологические изменения, и др., что ухудшило качество анализа эксклюзивной информации. Предшествующие исследования показали, что при величине дозы, начиная с 15 кГр в биологических тканях могут происходить необратимые изменения в структуре и свойствах [13, 14]. Особенно критичен процесс деградации костного коллагена. Вместе с тем сохранение костного коллагена в ископаемых фрагментах

---

2 Распоряжение Правительства РФ от 29.12.2023 г. за №4073-р со сроком реализации 2025 – 2029 гг.



оказывается очень важным при их исследовании, особенно при определении возраста животного [15].

Для того, чтобы сохранить свойства костной ткани, коллективом авторов кафедры физики ускорителей и радиационной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова совместно с учеными Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) [11] была разработана технология комбинированной двухэтапной обработки, основанной на использовании озono-кислородной смеси на первом этапе и последующей радиационной обработки ускоренными электронами на втором. При этом, как показали исследования, даже непродолжительное воздействие (около 20 мин) при относительно невысокой концентрации озона в озono-кислородной смеси (6-8 мг/л) обеспечило существенное ослабление популяции патогенов. В результате их радиорезистентность была снижена, что позволило уменьшить величину поглощенной дозы при радиационной обработке. Стерилизация, осуществленная потоком ускоренных электронов, при которой величина поглощенной дозы составила 11-12 кГр, обеспечила достаточный уровень стерильности костного фрагмента, что подтвердили микробиологические исследования. В результате был достигнут выраженный синергетический эффект стерилизующего воздействия озono-кислородной смеси с указанными параметрами и последующего радиационного воздействия. Было бы естественным использовать такой шадящий подход в работах по стерилизации ископаемых останков мамонтовой фауны. Однако, прежде чем сделать соответствующие практические рекомендации необходимо провести целевые исследования селективного и сочетанного воздействия компонентов комбинированной стерилизации (озон + радиация) на свойства и характеристики костной ткани.

**Во второй главе** описаны используемые в работе материалы, экспериментальная часть, пробоподготовка и методы инструментального анализа (растровой электронной микроскопии, атомно-силовой микроскопии, метод инфракрасной спектроскопии, метод определения микротвердости), рассмотрены оптимальные параметры воздействия. Изучение морфологии поверхности образцов проведено на растровом электронном микроскопе (РЭМ) высокого разрешения JEOL JSM-7800F 2012 (Japanese Electron Optics Laboratory, Япония) с насадкой для элементного анализа. Получены колебательные спектры образцов с использованием инфракрасного спектрометра с преобразованием Фурье Varian 7000 FTIR. Исследования механических характеристик костных образцов включали измерение показателя микротвердости по Виккерсу и тестирование образцов с использованием цифрового микротвердомера DM8 (Италия), статистическая обработка осуществлялась с использованием стандартной программы Statistica 13.3.

В исследовании использовались образцы костной ткани быка и мамонта. Мамонтовая кость предоставлена Палеонтологическим музеем РАН (г. Москва) и Музеем мамонта (г. Якутск) (Сертификат – ветеринарное свидетельство 214 №0024407 от 29.08.2018 г.). Лабораторные исследования проводились в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, Томском политехническом университете, Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР), Северо-восточном федеральном университете (СВФУ), Арктическом инновационном центре и Палеонтологическом институте имени А. А. Борисяка РАН.

Образцы вырезались механически из нативной костной ткани, обезжиривались и высушивались. В целях улучшения качества пробоподготовки протестированы различные методы обработки: зубчатый диск, алмазная фреза, способ гидродинамической резки.

Далее образцы подвергались различному стерилизующему воздействию: селективно – озono-кислородной смесью с концентрацией 6-8 мг/л в течение 15-20 мин., а также облучением потоком быстрых электронов (образцы помещались в герметичную упаковку, величина поглощенной дозы варьировалась в диапазоне 5–25 кГр). Озono-кислородную смесь получали с использованием промышленного генератора медицинского озона Ас-ГОКСф-5-02-ОЗОН (Россия) на вход которого подавался кислород от концентратора кислорода VisionAire (США). Значение концентрации озона фиксировалось с помощью соответствующего измерителя ИКО-50 (Россия). Герметичная упаковка костных образцов осуществлялась с использованием двухслойной термопленки на запаивающем аппарате F70-400 (Нидерланды).

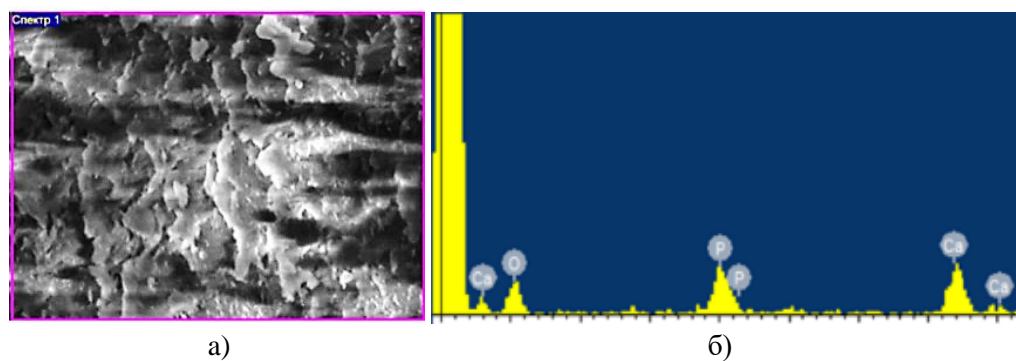
Облучение образцов кости (помещенных в герметичную упаковку) проводили на линейном ускорителе электронов непрерывного действия на энергию 1 МэВ (Институт ядерной физики МГУ им. М.В. Ломоносова). В процессе стерилизации и при последующем хранении костных образцов использовали пакеты из двухслойной термопленки DGM Steriguard. Поглощенные дозы составляли 2, 5, 12, 15, 20 и 25 кГр, инструментальный контроль дозы облучения осуществлялся с помощью дозиметрических детекторов пленочного типа СО ПД(Ф)Р-5/50 (ГСО 7865-2000). Микробиологические исследования выполнялись для оценки эффективности процесса стерилизации в соответствии с ОФС 42-0066-07 (Государственная фармакопея РФ, XII, часть 1, с. 131-139) с использованием тиогликолевой среды и среды Сабуро.

**В третьей главе** приведены основные результаты экспериментальных исследований и их обсуждение. Результаты разделены на 6 пунктов, посвященных изучению селективного озонного воздействия на материал (п.1), радиационной стерилизации на морфо-механические характеристики образцов (п.2, п.4), исследованию костного коллагена с помощью ИК-спектроскопии и последствий воздействия радиации на содержание коллагена (п.3), оптимизации основных параметров комбинированной методики (на основе озонного и радиационного сочетанного воздействия) в целях понижения поглощенной дозы с сохранением стерильности материалов с помощью изучения влияния предлагаемой методики на характеристики образцов (п.5), рассмотрению результатов пробоподготовки и технологий изготовления костных образцов (п.6). Приведены практические рекомендации для комбинированной радиационной стерилизации костных фрагментов, перспективы дальнейших исследований и основные выводы.

## **1. Исследование селективного воздействия озона на костные образцы**

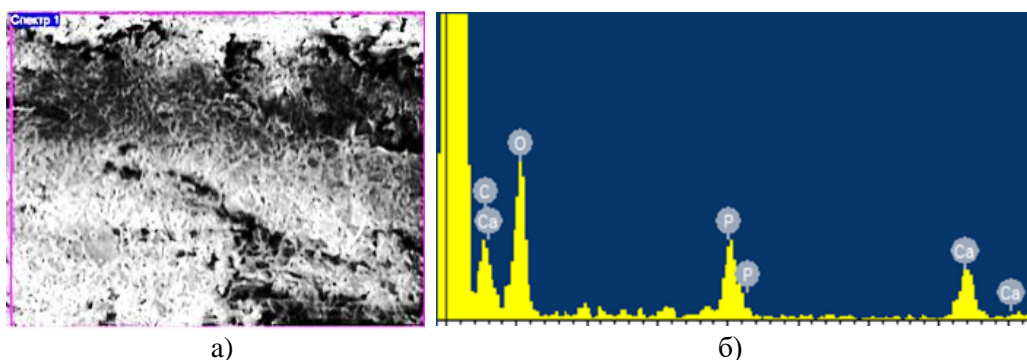
В ходе исследований свойств и характеристик поверхностей костных образцов после различных видов стерилизующих воздействий была получена информация, в частности, о морфологии и элементном составе образцов. На рисунке 1 предоставлен пример полученных данных (микрофотография поверхности и элементный состав мамонтовой кости) для микроскопического анализа контрольного образца, который не подвергался обработке и был упакован в нестерилизованную термопленку.

По итогам элементного анализа состава костной ткани выявлены основные химические элементы – кальций (~18%), углерод (~32%), фосфор (~8%) и кислород (~35%). Кальций и фосфор (минеральная основа кости) выполняют важную функцию, обеспечивая механическую прочность костных структур.



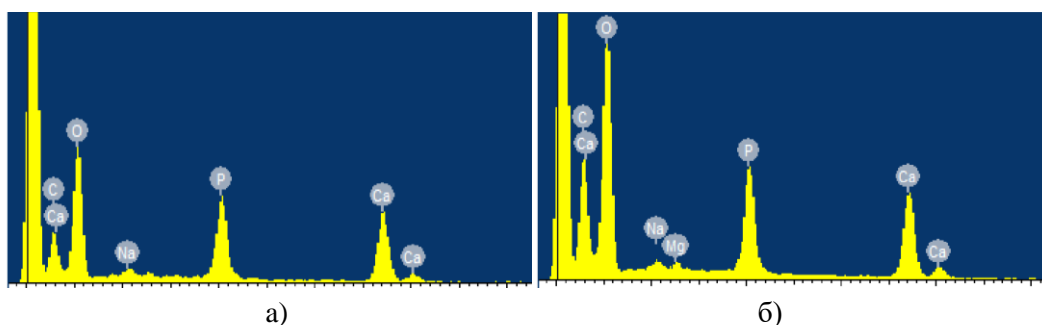
**Рис. 1.** Пример характеристик поверхности костных образцов мамонта без озоновой обработки: СЭМ-изображение поверхности костного образца (а). Результаты элементного анализа поверхности (б).

В результате обработки озоновой смесью (с концентрацией 6–8 мг/л в промежутках от 2 до 35 минут) экспериментальных костных образцов (герметично упакованных в термопленку) заметно повысилось процентное содержание кислорода  $O_2$ . В то же время, стерилизация озоном не повлияла на состояние морфологии поверхности костной ткани, не установлено существенных структурных изменений поверхностного слоя и процентного содержания элементов, отличных от кислорода.



**Рис. 2.** Характеристики поверхности образцов кости мамонта после воздействия озона (8 мг/л, 15 минут): СЭМ-изображение поверхности костного образца (а). Результаты элементного анализа поверхности (б).

Изучен элементный состав костных материалов, обработанных озоном в течение различных периодов времени (от 5 до 25 минут с одинаковой концентрацией).



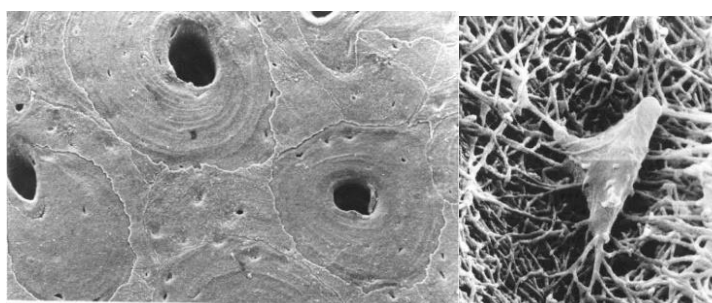
**Рис. 3.** Элементный состав на поверхности костных образцов после обработки озоном в концентрации (8,0–8,5) мг/л. в течение различного периода времени: (а) 5 мин. (б) 10 мин.

Эксперименты показали, что содержание кислорода в поверхностном слое всех исследованных образцов (см. рис.3, рис. 4) монотонно увеличивается с увеличением времени воздействия озона. При этом значительных изменений морфологии поверхности образцов не наблюдается. Данный факт может иметь важное значение для эффективности последующего процесса радиационной обработки на втором этапе стерилизации.



**Рис. 4.** Изменение концентрации кислорода в слое костного образца при различной продолжительности озонированной обработки.

Костная ткань обладает уникальной структурой, которая характеризуется наличием развитой системы внутрикостных пространств. Она формируется из целого ряда компонентов различного пространственного масштаба. Основным структурно-функциональным элементом является остеон. Внутри него – цилиндрический Гаверсов канал со средним диаметром до 100 мкм (рисунок 5, слева). Между центральными каналами образуются локальные анастомозы – прободающие или фолькмаровы каналы с таким же или вдвое меньшим диаметром, далее – лакуно-канальцевая система микронных масштабов (рисунок 5, справа).



**Рис. 5.** РЭМ-снимки микроструктуры костных тканей.

Причем эта система распределена по объему кости более равномерно, а проведенные оценки показывают, что отношение пористости канальцев  $\epsilon_K$  к пористости лакун  $\epsilon_L$  может быть оценено как:

$$\frac{\epsilon_K}{\epsilon_L} = \frac{N Z / 2 \pi r^2 a}{N \pi a^3 / 3} = \frac{3}{2} Z \left( \frac{r}{a} \right)^2$$

где  $r$  – радиус канала,  $a$  – длина канала,  $N$  – число лакун в единице объема,  $Z$  – среднее число канальцев одной лакуны.

Результаты расчетов показывают, что для компактной кости объём системы лакун-каналцев в реальных случаях более чем на 90% определяется объёмом лакун. В результате кость обладает пористой структурой. По данным измерений с использованием методики центробежной порометрии преимущественный размер пор (в нативной кости быка) составляет от 50 до 200 мкм. Эти данные хорошо коррелируют и с результатами электронной микроскопии. Причем объемная доля этих пор в зависимости от вида животного может колебаться в пределах порядка 5-10% от общего объема кости.

**Таблица 1.** Сравнительные данные состава компактной кости человека и животных.

Объекты	Люди			Коровы (КРС)			Свинья
	Мин	Макс	Сред.	Мин	Макс	Сред.	
V <sub>пор</sub> (%)	4,2	7,4	6,2	6,8	7,9	7,54	7,6
V <sub>воды</sub> (%)	0,9	1,1	1,0	0,8	1,6	1,2	1,1
V <sub>мин</sub> (%)	43,6	49,5	46,3	49,2	53,7	52,1	50,6
V <sub>орг</sub> (%)	45,2	48,0	46,5	38,6	44,0	40,3	41,7

\*V<sub>пор</sub>, V<sub>воды</sub>, V<sub>мин</sub>, V<sub>орг</sub> – относительные (к объёму образца) объёмы пор, воды, минерального и органического компонент твердого матрикса кости.

При наличии развитой системы внутрикостных пространств [17] содержание кислорода после озонной обработки повышается не только на поверхности кости, но и в ее объеме. В результате и кислородный эффект проявляется и в объеме кости. В случае работы с ископаемой костью мамонта ситуация еще более благоприятная. В течении длительного срока (20 – 40 тыс. лет) кость мамонта теряет практически всю органическую составляющую. И как следствие – реальная (эффективная) пористость таких ископаемых костей составляет до 55% от объема костной ткани, а значит и кислорода в объеме после озонной обработки – значительно больше, и вклад кислородного эффекта в радиационное воздействие – значительно выше. А значит и необходимая дозовая нагрузка на обрабатываемую костную ткань – меньше при сохранении эффективности стерилизующего радиационного воздействия.

В работе приведено качественное описание эффективности распространения озона в костной ткани при наличии развитой пористой структуры. Расчеты в рамках построенной многоконтинуальной модели были выполнены для различных значений давления озона с использованием параметров процесса, близких к реальным условиям проводившихся лабораторных исследований (продолжительность воздействия, коэффициенты диффузии и проницаемости в крупных и мелких поровых каналах). В результате была получена многоконтинуальная модель связанного потока и транспорта в перфорированной среде, с помощью которой удалось получить качественную картину распространения озона в объеме костной ткани. Полученная итоговая зависимость будет иметь следующий вид:

$$-\nabla_n(\widehat{\alpha}_{ij}^{mn}\nabla_m P_j) + \widehat{\beta}_{ij} P_j = g_i. \quad (1)$$

$$\widehat{\gamma}_{ij} \frac{\partial C_j}{\partial t} - \nabla_n(\widehat{\eta}_{ij}^{mn}\nabla_m C_j) + \widehat{\xi}_{ij}^m \nabla_m C_j + \widehat{\theta}_{ij} C_j = h_i.$$

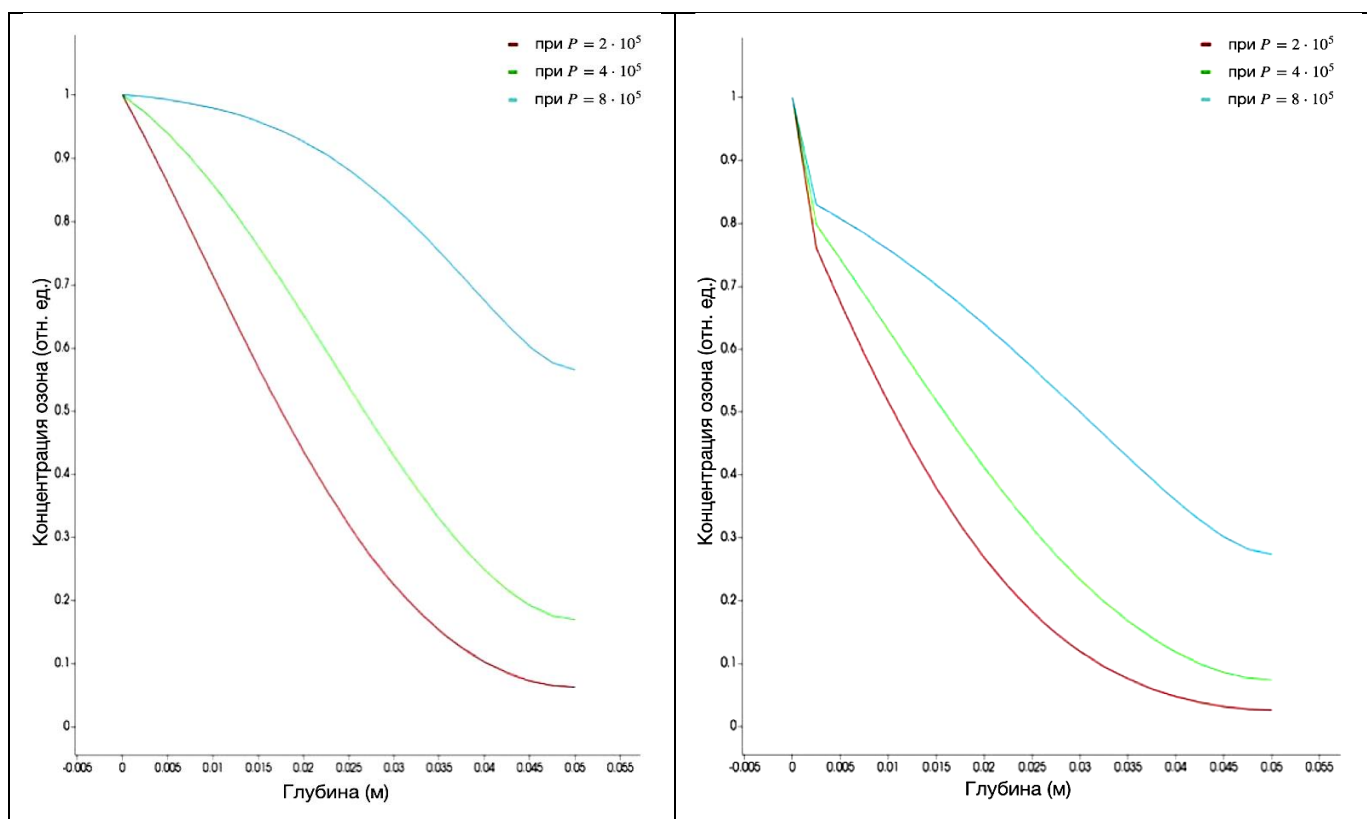
где  $P_j$  и  $C_j$  – это давления и концентрации в континуумах  $j$  ( $j = 1, 2$ ),  $\alpha_{ij}^{mn}$  – это коэффициенты проницаемости,  $\beta_{ij}$  – это коэффициенты перетока между континуумами давления,  $\eta_{is}^{km}$  – это коэффициенты диффузии,  $\xi_{ij}^m$  – это скорости,  $\theta_{ij}$  – переток между континуумами концентрации.

Расчеты выполнены для различных значений давления озона с использованием параметров процесса, близких к реальным условиям проводившихся лабораторных

исследований (продолжительность воздействия – 1200с, коэффициенты диффузии  $D = 1.86 \times 10^{-10} \text{ м}^2/\text{с}$  в мелких поровых каналах и  $D = 1.86 \times 10^{-7} \text{ м}^2/\text{с}$  в крупных поровых каналах, коэффициент проницаемости задается равным  $k = 2.8 \times 10^{-15} \text{ м}^2 / (\text{Па} \cdot \text{с})$  в мелких порах и  $k = 2.8 \times 10^{-12} \text{ м}^2 / (\text{Па} \cdot \text{с})$  в крупных порах).

Результаты модельных расчетов в виде пространственного распределения концентрации озона (в относительных единицах) по глубине образца в финальный момент времени для различных значений давления приведены на рис.6.

Проведенное модельное рассмотрение показало, что реально существующая пористая структура костной ткани обеспечивает эффективное проникновение озono-кислородной смеси в толщу костного образца при озонной обработке на первом этапе комбинированной радиационной стерилизации.



**Рис. 6.** Концентрация озона в зависимости от глубины для континуума больших пор (слева) и континуума малых пор (справа).

## 2. Исследование морфо-механических характеристик образцов после радиационного воздействия

Анализ результатов воздействия излучения на физические характеристики образцов свидетельствует о значительных структурно-функциональных изменениях, в том числе, об уменьшении предела прочности и изменении (до 25%) в области упругих деформаций, зоне разрушения и области текучести. Использованные параметры для оценивания механических характеристик: модуль упругости ( $E$ ), напряжение разрушения ( $\sigma_f$ ), напряжение текучести ( $\sigma_y$ ), деформация текучести ( $\varepsilon_y$ ), деформация разрушения ( $\varepsilon_f$ ). При последующем повышении дозы излучения до 25 кГр, прочность образцов снижается на треть (испытание на изгиб). Основные данные снижения механических характеристик представлены в виде таблице 2 [18].

При проведении следующей серии физических испытаний была проведена оценка изменений, которая показала, что после радиационного воздействия с величиной поглощенной дозы 17 кГр, прочность образцов снижается на 11%, при 30 кГр – на 22%. При испытаниях на сжатие, уменьшение прочности при дозе 28 кГр составляет 35%, а при растяжении – 10% при дозе 35 кГр. Анализ механических характеристик образцов биологических тканей после радиационной обработки с шагом в 5 кГр в диапазоне до 25 кГр свидетельствует о существенном уменьшении предела прочности и относительной деформации. При этом наименьшие изменения отмечены для модуля упругости, а наибольшие – для модуля вязкости [18]. Таким образом, анализ механических характеристик образцов после радиационной обработки с дозой до 25 кГр свидетельствует о существенном уменьшении предела прочности и относительной деформации (вплоть до 25%) вблизи границ зоны упругих деформации, зоны текучести и разрушения.

**Таблица 2.** Динамика изменения механических характеристик исследуемых образцов кости после воздействия ионизирующего излучения.

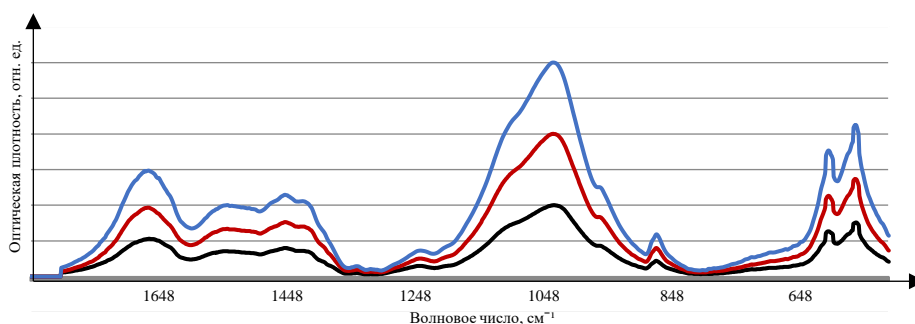
Доза, кГр	$\sigma_y$ , МПа	$\varepsilon_y$ , %	E, ГПа	$\sigma_f$ , МПа	$\varepsilon_f$ , %
0	93 ± 1.17	0.87 ± 0.01	10.76 ± 0.23	166 ± 3.22	2.74 ± 0.08
15	91 ± 1.17	0.82 ± 0.01	11.24 ± 0.19	162 ± 3.18	2.43 ± 0.07
20	88 ± 0.89	0.80 ± 0.01	10.92 ± 0.20	156 ± 3.30	2.26 ± 0.06
25	87 ± 1.89	0.80 ± 0.02	10.88 ± 0.25	155 ± 2.97	2.24 ± 0.05

Получены РЭМ-снимки нативной костной ткани при различных увеличениях. При стерилизации поглощённой дозой (15 кГр и выше) на поверхности костных образцов наблюдаются микро и макротрещины. Сравнительный анализ данных элементного анализа свидетельствует о том, что в результате облучения в диапазоне поглощенных доз от (15 кГр, 20 кГр и выше) происходят видимые изменения морфологии костных фрагментов, которые сопровождаются изменением механических характеристик, что подтверждается данными других авторов [13, 14].

### **3. Исследование состояния костного коллагена с помощью ИК-спектроскопии до и после селективного и комбинированного радиационного воздействия**

Применение ИК-спектроскопии позволило получить новые результаты относительно сохранения костного коллагена в мамонтовой кости и его изменения при стерилизующем (селективном и комбинированном) воздействии. Особое внимание, уделенное коллагену в настоящей работе, обусловлено тем, что он выполняет биомеханические функции, является важной структурой и наиболее распространенным белком в организме животных и человека. Коллаген играет огромную роль в палеонтологических (например, при определении возраста останков) и других исследованиях, имеет большое биомедицинское значение (материалы на основе коллагена широко используются в тканевой инженерии). Зарегистрированные ИК-спектры дают информацию о белковых, минеральных компонентах костной ткани. Спектры кости мамонта и быка состоят из органического матрикса (в основном из коллагена I типа) и неорганического матрикса (состоящего из карбонатного гидроксиапатита). В области спектра 1200–1800 см<sup>-1</sup> встречаются полосы, соответствующие амидным группам: амид I (1625–1700 см<sup>-1</sup>), амид II (1450–1650 см<sup>-1</sup>), амид III (1200–1305 см<sup>-1</sup>), характерные для коллагена.

Сравнительный анализ полученных спектров кости Малоляховского мамонта (обитавшего более 43 тыс. лет назад) и спектров других костей из археологических памятников, показал, что костный коллаген мамонтовой кости находится в относительно хорошей сохранности, вероятно, из-за условий мерзлоты. После селективного радиационного воздействия с величиной поглощенной дозы (25 кГр и более) выявлено исчезновение некоторых полос коллагена. На рис. 7 представлены данные, полученные для образцов костной ткани, подвергавшихся комбинированной обработке (последовательному влиянию озона и радиации). Анализ результатов свидетельствуют о том, что при радиационной комбинированной стерилизации с поглощенной дозой (12 кГр) основные компоненты коллагена сохраняются.



**Рис. 7.** Результаты исследований на ИК-спектрометре: спектры контрольного образца (синий); образца после облучения при 12 кГр (красный) и при 20 кГр (черный).

При радиационном воздействии с величиной поглощенной дозы (20 кГр) зарегистрировано снижение интенсивности соответствующих пиков, что свидетельствует об уменьшении содержания костного коллагена, что в свою очередь, влияет на свойства и качество костных структур. Таким образом, селективное и сочетанное с озоном радиационное облучение быстрыми электронами с поглощенной дозой 12 кГр не способствовало полной деградации какого-либо компонента кости, что подтверждает положительный эффект применения комбинированного метода стерилизации.

В результате исследования методом атомной силовой микроскопии (АСМ) было обнаружено изменение поверхностного рельефа костных образцов после воздействия радиации. Данные других авторов [13, 14] свидетельствуют о нарушении морфологической структуры коллагена после радиационного воздействия с дозой выше 15 кГр. Анализ экспериментальных данных дает основание предполагать, что изменение структуры коллагена частично может быть объяснено изменением расстояния между молекулами коллагена. Разработана математическая модель, которая описывает изменения межмолекулярных взаимодействий коллагена при воздействии радиации. Рассматриваем молекулу коллагена как полярную молекулу и оцениваем дипольный момент молекулярной структуры коллагена с учетом, что заряд диполя  $q = 786e$ :

$$p = bql$$

$p$  – электрический дипольный момент;  $b$  – const для оценки дипольного момента;  $q$  – заряд;  
 $l$  – длина молекулы и длина диполя;

Поглощенную энергию образца можем представить, как:

$$E_{\text{погл}} = Dm$$

$E_{\text{погл}}$  – общая поглощенная энергия образца;  $D$  – поглощенная доза;  $m$  – масса образца.



Если  $r_1$  – исходное расстояние между центрами диполей (центрами двух полярных молекул коллагена) до облучения, то  $r_2$  – расстояние между центрами диполей (центрами двух полярных молекул коллагена) после облучения. Установлено, что при увеличении дозы, увеличивается расстояние  $r_2$  (т.е., расстояние между молекулами при воздействии радиации). Исходя из того, что потенциальную энергию межмолекулярного взаимодействия можно представить, как:  $U = -\frac{A}{r^6}$ , где  $U$  – потенциальная энергия взаимодействия между молекулами,  $A = \frac{2}{3} \frac{p^4}{kT}$ ;  $k = 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{\text{Дж}}{\text{К}}$  – постоянная Больцмана.

Конечная формула, определяющая отношение расстояний между центрами диполей до и после облучения, имеет вид:

$$r_2 = \sqrt[6]{\frac{A}{\frac{A}{r_1^6} - \frac{E_{\text{погл}}c}{2N}}}$$

где  $\frac{E_{\text{погл}}c}{2N}$  – поглощенная энергия молекулярной структуры, рассчитывается на основе эквивалентной дозы путем умножения поглощенной дозы на коэффициент  $k$ , отражающий способность данного вида излучения повреждать костную ткань, а также коэффициента, учитывающего расположения центра масс диполя ( $b$ ) молекулярной структуры коллагена;  $N$  – количество молекул в образце,  $N = \frac{m}{M} = \frac{1,77 \cdot 10^{-3}}{4,8 \cdot 10^{-22}} = 0,36 \cdot 10^{19}$ ;  $M$  – молекулярная масса коллагена = 300 кДа.

$$\Delta r = r_2 - r_1$$

Численные значения этих расстояний, рассчитанные по данной формуле, приведены в таблице 3.

**Таблица 3.** Зависимость изменения межмолекулярного расстояния  $\Delta r$  от значений величины поглощённой дозы.

Доза, кГр	Расстояние $\Delta r$ , нм
5	6
10	10
20	18
25	24

Таким образом, проведенные на основании разработанной модели расчеты показывают, что при увеличении радиационного воздействия увеличиваются расстояния между волокнами коллагена, что может рассматриваться как один из возможных физических механизмов деградации коллагена с ростом дозовой нагрузки, что согласуются с данными других авторов [13, 14]. Предположения модели могут быть подтверждены с помощью оценки изменений рельефа поверхности кости при воздействии радиации.

#### 4. Исследование комбинированного воздействия озона и радиации на характеристики поверхности образцов

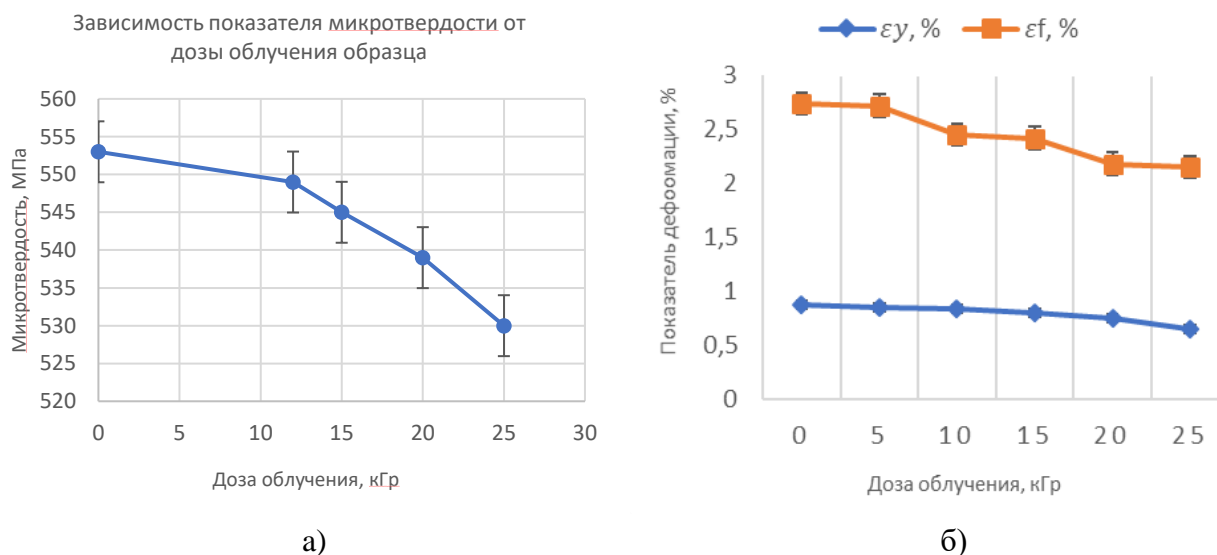
Комплексные исследования закономерностей изменения морфо-механических характеристик поверхности костных фрагментов после различных видов стерилизующих воздействий в указанных выше диапазонах варьирования параметров (концентрация озона в

озоно-кислородной смеси, значение дозы облучения) показали следующие результаты (см. табл. 4, рис. 8).

**Таблица 4.** Величина микротвердости поверхностного слоя костного фрагмента после различных видов стерилизующих воздействий.

№ п/п	Вид и параметры обработки костного фрагмента	Параметры обработки (доза облучения, кГр)	Микротвердость, МПа ( $M \pm \Delta M$ )
1	Контрольный образец (нативная кость)	-	$553 \pm 1$
2	Озоновая стерилизация (8 мг/л)	-	$550 \pm 1$
3	Радиационная стерилизация (быстрые электроны)	12 кГр	$549 \pm 2$
4	Комбинированный способ стерилизации	12 кГр	$547 \pm 2$
5	Радиационная стерилизация (быстрые электроны)	15 кГр	$545 \pm 2$
6	Комбинированный способ стерилизации	15 кГр	$541 \pm 2$
7	Радиационная стерилизация (быстрые электроны)	20 кГр	$539 \pm 2$
8	Комбинированный способ стерилизации	20 кГр	$518 \pm 2$
9	Радиационная стерилизация (быстрые электроны)	25 кГр	$530 \pm 2$

Анализ полученных данных позволяет заключить, что при обработке костного образца ионизирующим излучением с дозовой нагрузкой 20-25 кГр (как отдельно, так и в сочетании с озоновым воздействием) отмечается тенденция снижения показателя микротвердости. Приведённые данные соответствуют результатам других исследователей [13, 14, 18, 19]. Вместе с тем, селективное стерилизующее воздействие озонового воздействия (с концентрацией 6 – 8 мг/л и временем обработки 15–20 минут) и радиации с величиной поглощенной дозы до 15 кГр, а также их сочетанное последовательное воздействие не приводят к существенным изменениям упруго-пластических характеристик поверхности костного фрагмента.



**Рис. 8.** Механические характеристики образцов после воздействия радиации: а) показатель микротвердости; б) показатели деформации: текучести (синий), разрушения (оранжевый).

Полученные результаты согласуются с выводами разработанной модели и данными других авторов [13, 14, 18]. Таким образом, изучение закономерностей изменения морфо-механических характеристик поверхностного слоя костных фрагментов в результате селективных и комбинированных воздействий в указанных выше диапазонах варьирования

параметров стерилизации (концентрация озона в озono-кислородной смеси, значение дозы облучения) и обобщение полученных данных, позволяет получить представление о тенденциях происходящих изменений в поверхностных слоях (табл. 2, 4).

На всех этапах работы осуществлялись микробиологические исследования с целью подтверждения эффективности проводимых селективных и комбинированных (озон + радиация) воздействий. В случае контаминации в виде грибов (именно грибы наиболее распространены в тканях ископаемых животных), наибольшую эффективность показал метод комбинированной радиационной стерилизации с заданными параметрами озонной и радиационной обработки.

### **Заключение**

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности применения комбинированной технологии радиационной стерилизации с использованием озono-кислородной смеси определенного состава на первом этапе и радиационного воздействия на втором этапе для обработки образцов костной ткани современных и древних животных.

Установлена рекомендуемая доза поглощения (12 кГр), время обработки, концентрация озона и другие параметры для эффективной и безопасной комбинированной радиационной стерилизации костных фрагментов.

Результаты исследования изменений морфологии, механических характеристик и элементного состава поверхности костной ткани при радиационном воздействии селективно и в комбинации с озонной обработкой подтверждают данные других авторов о деструктивных изменениях, связанных с радиационным воздействием при величине поглощенной дозы 15 кГр и выше.

С помощью ИК-спектроскопии проведена оценка остаточного коллагена в образцах костей. Показано, что использование комбинированной радиационной стерилизации таких образцов с оптимизированными параметрами воздействия не приводит к снижению содержания коллагена в костной ткани древних животных. Изменения фиксируются при радиационном воздействии с большими (более 15 кГр) значениями поглощенной дозы. Разработанная модель подтверждает полученные результаты о расслоении коллагеновых фибрилл при увеличении дозовой нагрузки.

Разработаны практические рекомендации по использованию комбинированной радиационной стерилизации на основании полученных экспериментальных данных по возможности и оптимизации применения метода для ископаемых биообъектов.

Изучено влияние озono-кислородной смеси на первом этапе комбинированной стерилизации костных фрагментов на поверхность. Показано, что в выбранном диапазоне параметров (концентрация озона 6-8 мг/л, продолжительность обработки до 20 минут) воздействие озона не приводит к морфологическим изменениям поверхности образца, отмечен рост содержания кислорода в поверхностных слоях костного образца, что создает условия для повышения эффективности радиационной обработки за счет действия кислородного эффекта при снижении общей дозовой нагрузки. Модельные исследования подтвердили возможность проникновения озона в толщу костных тканей в условиях существования развитой поровой структуры. Это приводит к повышению содержания кислорода не только на поверхности, но в объеме костной ткани и за счет кислородного эффекта – к повышению эффективности радиационного воздействия.

Подтверждена эффективность метода стерилизации на образцах мамонтовой кости после проведения микробиологических исследований (особенно для случая контаминации микроскопическими грибами).

Получены результаты исследования механических способов обработки при пробоподготовке для повышения качества образцов. Сравнительный анализ поверхностного слоя костных тканей после разных видов механической обработок показал, что при гидродинамической резке, поверхность кости характеризуется минимальными морфологическими изменениями. Данный способ подходит для бережного и щадящего выделения костных фрагментов хрупких ископаемых образцов.

Результаты исследований костной ткани современных и древних животных (ИК-спектры коллагена, РЭМ-снимки, элементный состав) позволяют получить и анализировать новую информацию о молекулярном строении и составе костной ткани при радиационном воздействии в сочетании с озоном и использовать для развития технологии сохранения палеонтологических останков.

Таким образом, с использованием современных физических методов проведены комплексные экспериментальные исследования характеристик поверхности костных материалов, определена наиболее эффективная методика стерилизации биообъектов и установлены оптимальные параметры технологии комбинированной радиационной стерилизации для древней ископаемой кости, при которых не происходят морфологические и механические изменения костных структур. Данный метод позволяет заменить или резко снизить использование токсичных химических препаратов, которые разрушительно влияют на биологические образцы.

Результаты исследований подтверждают перспективность использования комбинированной технологии обработки для стерилизации ископаемых образцов (с установленными оптимальными параметрами), позволяющей в максимальной степени сохранить исходные свойства и характеристики костного материала и при этом обеспечить эффективное подавление патогенов, безопасность последующих контактов и работы исследовательского персонала.

Синергетический эффект воздействия стерилизующих факторов (озон + ионизирующее излучение) достигается за счет эффективного ослабления популяции патогенов и снижения их радиорезистентности во время первоначального воздействия озона, что усиливает последующий эффект облучения. Кроме того, существенную роль играет кислородный эффект, который усиливает эффективность радиационного воздействия в поверхностной области и по объему костного фрагмента. В результате при этом обеспечивается возможность снижения дозовой нагрузки на втором этапе процесса комбинированной стерилизации до значений (11 – 12) кГр для достижения необходимого уровня стерильности костных фрагментов без существенных структурно-функциональных изменений.

#### **Публикации автора с соавторами по теме диссертации:**

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus, Web of Science, RSCI:

1. Nikolaeva, N.A. The Influence of Combined Sterilization Factors on the Structural and Functional Characteristics of Bone Implants / **N.A. Nikolaeva**, V.V. Rozanov, A.P. Chernyaev, I.V. Matveychuk, M.M. Makarova // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, № 19. – P. 14426. (WoS, JIF=4,9, **Q1**, 1 п.л., 80%).

2. Николаева, **Н.А.** Особенности изменения характеристик костных имплантатов при комбинированной стерилизации / **Н.А. Николаева**, В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П.

Черняев // Гены и клетки. – 2022. – Т. 17, № 3. – С. 162-163. (Scopus, SJP=0,160, **Q4**, 0,2 п.л., 60%).

3. Николаева, Н.А. Исследование структурно-функциональных характеристик поверхности костных имплантатов при комбинированной стерилизации / В.В. Розанов, А.П. Черняев, **Н.А. Николаева**, Л.Н. Саввинова // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2020. – Т. 84, № 11. – С. 1587-1592 (Scopus, SJR = 0,226 **Q3**; 0,7 п.л., 50%).

4. Николаева, Н.А. Возможности и перспективы совершенствования комбинированных методик стерилизации биоимплантатов / **Н.А. Николаева**, В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, Л.Н. Саввинова // Гены и клетки. – 2019. – Т. 14, № 5. – С. 167. (Scopus, SJR=0,117, **Q4**, 0,2 п.л., 70%).

5. Николаева, Н.А. Современное состояние и направления дальнейшего развития высокотехнологичных методов радиационной стерилизации / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, **Н.А. Николаева**, С.А. Краснов // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2020. – Т. 84, № 4. – С. 521-524 (Nikolaeva, N. A. Current State and Lines of the Further Development of High-Tech Means of Radiation Sterilization / V.V. Rozanov, I.V. Matveychuk, A.P. Chernyaev, **N.A. Nikolaeva**, S.A. Krasnov // Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics. – 2020. – Vol. 84, № 4. – P. 403 – 405.) (Scopus, SJR=0,226, **Q3**, 0,23 п.л., 70%).

6. Николаева, Н.А. Развитие технологий стерилизации природных наноструктурированных материалов / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, **Н.А. Николаева**, А.О. Хуцистова // Российские нанотехнологии. – 2023. – Т. 18, № 4. – С. 547-552. (**Nikolaeva**, N.A. Development of Technologies for Sterilization of Natural Nanostructured Materials / V.V. Rozanov, I.V. Matveychuk, A.P. Chernyaev, **N.A. Nikolaeva**, A.O. Khutsistova // Nanobiotechnology Reports. – 2023. – Vol. 18, №. 4. – P. 624-628.) (Scopus, SJR = 0,19, **Q4**, 0,23 п.л., 50%).

7. Николаева, Н.А. Стратегия развития комбинированных радиационных технологий стерилизации костных имплантатов / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, **Н.А. Николаева**, Л.Н. Саввинова // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2021. – Т. 85, № 5. – С. 745-748. (Nikolaeva, N.A. Strategy for Developing Combined Radiation Technologies for Bone Implant Sterilization / V.V. Rozanov, I.V. Matveychuk, A.P. Chernyaev, **N.A. Nikolaeva**, L.N. Savvinova // Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics. – 2021. – Vol. 85, № 5 – P. 581-584. (Scopus, SJR=0,211, **Q3**, 0,23 п.л., 60%).

8. Николаева, Н.А. Изменения морфомеханических характеристик костных имплантатов при радиационной стерилизации / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, **Н.А. Николаева** // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2019. – Т. 83, № 10. – С. 1435-1440. (**Nikolaeva**, N.A. Changes in the Morphological and Mechanical Characteristics of Bone Implants upon Radiation Sterilization. / V.V. Rozanov, I.V. Matveychuk, A.P. Chernyaev, **N.A. Nikolaeva** // Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics. – 2019. – Vol. 83, №. 10. – P. 1311-1315. (Scopus, SJR=0,226, **Q3**, 0,3 п.л., 50%).

9. Nikolaeva, N.A. Using scanning electron microscopy and atomic force microscopy to study the formation of nanoparticles on red blood cell surface in cervical cancer patients / S.N. Mamaeva, I.V. Kononova, M. Ruzhansky, P.V. Nikiforov, **N.A. Nikolaeva**, A.N. Pavlov, N.F. Fedorova, J. Huang, M.N. Semenova, D.V. Barashkova, L.S. Frolova // International Journal of Biomedicine. – 2020. – Vol. 1, № 10. – P. 70-75 (Scopus, SJR= 0.127, **Q4**, 0.5 п.л., 50%).

### Прочие публикации

10. Nikolaeva, N.A. Scanning electron microscope: A model for determining of main emission characteristics for the Schottky cathode in the mode of working with biological samples / S.N. Mamaeva, G.V. Maksimov, N.V. Egorov, S.R. Antonov, E.P. Neustroev, **N.A. Nikolaeva**, A.N. Pavlov // AIP Conference Proceedings. – 2021. – Vol. 2328. – Art. 0042476

11. Николаева, Н.А. Математическое моделирование основных эмиссионных характеристик полевого и термополевого электронных катодов сканирующих электронных микроскопов при исследовании биообразцов / С.Н. Мамаева, А.Н. Павлов, **Н.А. Николаева**, Г.В. Максимов // Журнал технической физики. – 2023. – Т. 93, № 12. – С. 1716-1719.

12. Николаева, Н.А. Исследование состояния поверхности костных имплантатов при комбинированной стерилизации / Интеграция наук: междисциплинарность в медицине / **Н.А. Николаева**, В.В. Розанов, А.П. Черняев, И.В. Матвейчук, М.П. Макарова // Медицинская физика. – 2022. – № 3(95). – С. 35-36.

13. Николаева, Н.А. Технологии радиационной стерилизации костных имплантатов: современное состояние, проблемы, перспективы / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, **Н.А. Николаева** // Медицинская физика. – 2022. – № 3(95). – С. 13.

14. Николаева, Н.А. Комбинированные воздействия на биообъекты для повышения эффективности радиационной обработки / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, **Н.А. Николаева** // Медицинская физика. – 2019. – № 1(81). – С. 54-55.

### Список использованной литературы

1. Тихонов, А. Н. Мамонт / А. Н. Тихонов. – Москва ; Санкт-Петербург : Т-во научных изданий КМК, 2005. – 90 с. – (Серия: Разнообразие животных. Вып. 3).

2. Государственная программа Российской Федерации «Социально-экономическое развитие Арктической зоны Российской Федерации», утверждена постановлением Правительства Российской Федерации от 30.03.2021 г. № 484 [Электронный ресурс]. – URL: <https://minvr.gov.ru/activity/gosprogrammy/sotsialno-ekonomicheskoe-razvitie-arkticheskoy-zony/>.

3. Указ Президента Российской Федерации от 26.10.2020 г. № 645 «О Стратегии развития Арктической зоны Российской Федерации и обеспечения национальной безопасности на период до 2035 года» [Электронный ресурс]. – URL: <https://base.garant.ru/74810556/>.

4. Распоряжение Правительства РФ от 15.04.2021 N 996-р (ред. от 09.12.2023) «Об утверждении Единого плана мероприятий по реализации Основ государственной политики Российской Федерации в Арктике на период до 2035 года и Стратегии развития Арктической зоны Российской Федерации и обеспечения национальной безопасности на период до 2035 года» [Электронный ресурс]. – URL: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_382471/5fa8d1b8101e5c69c2c917c0907f691801bbdc59/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_382471/5fa8d1b8101e5c69c2c917c0907f691801bbdc59/).

5. Указ Президента Российской Федерации от 28.02.2024 № 145 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации» [Электронный ресурс]. – URL: <http://publication.pravo.gov.ru/document/0001202402280003>.

6. Указ Главы Республики Саха (Якутия) от 16.09.2019 г. № 740 о создании Научно-образовательного центра «СЕВЕР: территория устойчивого развития» [Электронный ресурс]. – URL: <https://nocsever.com/>.

7. Указ Президента Российской Федерации от 11.03.2019 N 97 «Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу» [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/72092478/>.

8. Едидин, Г. М. Филогенетический анализ микроорганизмов из мерзлых грунтов / Г. М. Едидин, А. В. Брушков, С. Г. Игнатов // Вестник Московского университета. Серия 4: Геология. – 2016. – № 5. – С. 92-95.
9. A novel nematode species from the Siberian permafrost shares adaptive mechanisms for cryptobiotic survival with *C. elegans* dauer larva / A. Shatilovich, V. R. Gade, M. Pippel [et al.] // PLoS Genetics. – 2023. – Vol. 19, No. 7. – P. e1010798.
10. International Atomic Energy Agency, Nuclear Techniques for Cultural Heritage Research, IAEA Radiation Technology Series No. 2, IAEA, Vienna (2011).
11. Патент № 2630464 Российская Федерация. Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов. Опубл. 8.9.2017 / Матвейчук И. В., Розанов В. В., Гордонова И. К. [и др.] ; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений». – № 2016131336; заявл. 29.07.2016, опубл. 08.09.2017, Бюл. №25.
12. Розанов, В.В. Исследование структурно-функциональных характеристик поверхности костных имплантатов при комбинированной стерилизации / В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, А.П. Черняев, Н. А. Николаева, Л. Н. Саввинова // Известия РАН. Серия физическая. – 2020. – Т. 84. – № 11. – С. 1587–1592.
13. Шангина, О. Р. Влияние радиационной стерилизации на структуру и свойства биоматериалов / Шангина О. Р., Нигматуллин Р. Т. // Морфология. – 2006. – Т. 129. – С. 44.
14. Nguyen, H. Reducing the radiation sterilization dose improves mechanical and biological quality while retaining sterility assurance levels of bone allografts / H. Nguyen, A. Cassady, M. Bennett [et al.] // Bone. – 2013. – Vol. 57, № 1. – P. 194 – 200.
15. Identification of a new hominin bone from Denisova Cave, Siberia using collagen fingerprinting and mitochondrial DNA analysis / S. Brown, T. Higham, K. Douka [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6. – P. 23559.
16. Медицинские озоновые технологии: новые задачи, возможности, оборудование / В. И. Пантелеев, В. В. Розанов, И. В. Матвейчук [и др.] // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2013. – № 2. – С. 003-011.
17. Луньков, А. Е. Порометрические методики морфометрии костной ткани / А. Е. Луньков. – Саратов : Изд-во Саратовского медицинского университета, 2015. – 120 с.
18. Изменения морфомеханических характеристик костных имплантатов при радиационной стерилизации / В. В. Розанов, И. В. Матвейчук, А. П. Черняев, [и др.] // Известия Российской академии наук. Серия физическая. – 2019. – Т. 83, № 10. – С. 1435-1440.
19. Влияние способов механической обработки и стерилизации на структурно-функциональное состояние поверхностного слоя костных образцов / Ю. Ю. Литвинов, И. В. Матвейчук, В. В. Розанов, В. В. Краснов // Российский журнал биомеханики. – 2021. – Т. 25. – № 2. – С. 186–191.