

ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОМУ АНАЛИЗУ И ДЛИТЕЛЬНОМУ СОХРАНЕНИЮ ИСКОПАЕМЫХ БИООБЪЕКТОВ. КОМБИНИРОВАННАЯ РАДИАЦИОННАЯ СТЕРИЛИЗАЦИЯ

Н.А. Николаева¹, В.В. Розанов^{2,3}, А.П. Черняев², И.В. Матвейчук³,
С.Н. Мамаева¹, С.П. Степанов¹, Д.А. Аммосов¹

¹ Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

³ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва

INNOVATIVE APPROACHES TO STRUCTURALLY- FUNCTIONAL ANALYSIS AND LONG-TERM CONSERVATION OF FOSSIL BIOLOGICAL OBJECTS. COMBINED RADIATION STERILIZATION

N.A. Nikolaeva¹, V.V. Rozanov^{2,3}, A.P. Chernyaev², I.V. Matveychuk³,
S.N. Mamaeva¹, S.P. Stepanov¹, D.A. Ammosov¹

¹ M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia

² M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³ All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

Реферат

Цель: Рассмотрены возможности применения комбинированного метода (озоновое и радиационное воздействия) для стерилизации биологических образцов тканей мамонта и других древних животных. Одна из задач исследования – оптимизация параметров предлагаемого метода на основе анализа эффективности обработки, проведения модельных оценок и экспериментальных работ для обеспечения сохранности материала и соблюдения требований безопасности при работе с ископаемыми объектами.

Материал и методы: Материалом исследования служили образцы из бедренных костей мамонта. Для их изучения использован комплекс физических методов: инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье, растровая электронная микроскопия с приставкой для элементного анализа, атомная силовая микроскопия, а также биомеханический анализ. Озоно-кислородную смесь получали с помощью медицинского озонатора А-с-ГОКСф-5-02-ОЗОН (Россия). Облучение образцов проводили в Институте ядерной физики МГУ им. М.В. Ломоносова на ускорителе электронов непрерывного действия УЭЛР-1-25-Т-001. В ходе моделирования использовали различные параметры озонowego и радиационного воздействий.

Результаты: Комбинированное воздействие позволяет существенно снизить дозовую нагрузку на ископаемый материал при одновременном эффективном уничтожении патогенов. Синергетический эффект последовательной обработки (озон + радиация) обеспечивает эффективную стерилизацию тканей при сохранении их свойств, что подтверждают результаты микробиологических исследований. Озоновое воздействие, даже в небольших дозах, существенно усиливает действие радиации за счет ослабления популяции патогенов и кислородного эффекта. Применение комбинированной технологии способствует сохранению костного коллагена в ископаемых образцах мамонтовой фауны.

Заключение: Полученные результаты позволяют рекомендовать технологию комбинированной радиационной стерилизации для использования в работах по стерилизации и консервации биологических образцов древних животных с минимально возможными изменениями их структурно-функциональных характеристик.

Ключевые слова: биологические ткани, мамонт, стерилизация биологических объектов, озон, радиационные технологии, комбинированные методы

Abstract

Purpose: The possibilities of using a combined sterilization method for biological samples of mammoths and other ancient animals using ozone and radiation effects are considered. One of the objectives of the study is to optimize the parameters of the proposed method based on the analysis of processing efficiency, conducting model evaluations and experimental work to ensure the safety of the material and compliance with safety requirements when working with fossil objects.

Material and methods: The research material was samples from the femur bones of mammoth. To study them, a set of physical methods was used: infrared spectroscopy with Fourier transformation, scanning electron microscopy with apparatus for elemental analysis, atomic force microscopy, and biomechanical analysis. Ozone-oxygen mixture was obtained with the medical ozonator A-s-GOSC-5-02-OZONE (Russia). Irradiation of samples was conducted at the M.V. Lomonosov Institute of Nuclear Physics on continuous-action electron accelerator UELR-1-25-T-001. Different ozone and radiation parameters were used in the simulation.

Results: Combined exposure significantly reduces the dose load on fossil material while effectively killing pathogens. The synergistic effect of consecutive treatment (ozone + radiation) ensures effective tissue sterilization while preserving their properties, as confirmed by the results of microbiological studies. Ozone exposure, even at low doses, significantly amplifies the radiation effect by weakening the pathogen population and oxygen effect. The use of combined technology contributes to the preservation of bone collagen in fossil specimens of mammoth fauna.

Conclusion: The results obtained allow us to recommend the technology of combined radiation sterilization for use in sterilization and conservation of biological samples of ancient animals with minimal possible changes in their structural and functional characteristics.

Key words: biological tissues, mammoth, sterilization of biological objects, ozone, radiation technologies, combined methods

E-mail: larsoon696@mail.ru

<https://doi.org/10.52775/1810-200X-2024-104-4-??-??>

Введение

Республика Саха (Якутия) является самым большим по территории (3 млн 83,5 тыс. кв. км) и холодным регионом Арктики. По всей территории Республики Саха (Якутия) расположены области многолетней мерзлоты, самые древние и значительные по толщине мерзлые грунты. Вместе с тем, Якутия – мировой лидер по палеонтологическим находкам – более 85 % всех обнаруженных останков мамонтовой фауны (в частности, мамонтов, бизонов, пещерных львов и других животных) приходится на республику [1]. Этому в значительной степени способствует ряд факторов: последствия глобального потепления, таяния льдов, периодически происходящие обрушения берегов, наводнения в Арктике, освождение из мерзлоты скотомогильников и останков древних животных, которые могли погибнуть от различных опасных заболеваний и вирусов.

Именно поэтому при работе с ископаемыми образцами необходимо учитывать, что в исходном состоянии они могут быть контаминированы (заражены различными возбудителями). И, если в задачи исследователя не входит изучение самих этих возбудителей, необходимо обеспечить надежную стерилизацию исследуемых объектов.

Для радиационной обработки объектов культурного наследия используют гамма-излучение с величиной доз 20–40 кГр, а также пучки быстрых электронов (LINAC). Известны примеры радиационной обработки ископаемых животных. Осенью 2008 г. в мерзлоте Сибири (Республика Саха, Российская Федерация), был обнаружен замороженный экземпляр мамонта, получивший название «мамонтенок Хрома». Его останки были подвергнуты обработке гамма-излучением в санитарных целях и для консервации (2010 г., Франция). Известно, что бактерицидное действие радиации позво-

ляет инактивировать микроорганизмы, ограничивая естественные механизмы распада мягких тканей, которые запускаются во время оттаивания. При этом радиационное воздействие на биологические ткани с большой энергией пучка может приводить к ряду нежелательных эффектов [2]. К примеру, радиация при величине поглощенной дозы 20–40 кГр может вызывать серьезные изменения как в структуре, так и свойствах ископаемых фрагментов, что приводит к потере важной информации при их дальнейшем изучении. В частности, у мамонтенка Хрома после радиационной обработки были выявлены нарушения структуры ДНК.

В данной работе использован комбинированный радиационный метод стерилизации с применением для первичной стерилизации последовательного озонowego и радиационного воздействий для обработки биологических образцов мамонта и других древних животных, а также подготовки их к дальнейшему сохранению и изучению [3]. Были проведены исследования возможных изменений морфо-механических свойств и характеристик костных образцов при селективном, а также сочетанном воздействии озона и радиации с разными дозами облучения. В ходе работы установлено оптимальное значение величины дозы поглощения при сохранении стерильности и исходной структуры древних ископаемых.

Материал и методы

Визуализацию и исследования костных образцов осуществляли методами инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (Varian 7000 FT-IR, Varian, США), растровой электронной микроскопии с приставкой для элементного анализа (JSM-7800F, JEOL, Япония), атомной силовой микроскопии (Solver NEXT, NT-MDT, Россия). Измерения микротвердости по Виккерсу осуществляли с использованием микротвердомера DM8 (Италия). Для контроля эффективности предложенной технологии стерилизации проводили микробиологические исследования по стандартным методикам.

В исследованиях были использованы фрагменты костей мамонта из коллекций Музея Мамонта Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова и Музея Палеонтологического института им. А.А. Борисяка

РАН. Кость Мамонта - достаточно редкий материал, поэтому для апробации предлагаемой методики и методических разработок были использованы образцы нативной костной ткани быка. Полученные образцы разделили на партии ($n=150$) и стерилизовали разными методами:

- ✓ озоновым – обработка образцов в проточном режиме озono-кислородной смесью (концентрация озона 6–8 мг/л) с помещением в герметичную упаковку;
- ✓ радиационным – облучение образцов с величинами поглощенной дозы 5–25 кГр после их хранения в герметичной упаковке;
- ✓ комбинированным – с воздействием на образцы озono-кислородной смесью с концентрацией озона (6–8 мг/л с последующим радиационным облучением с величинами поглощенной дозы 5–25 кГр.

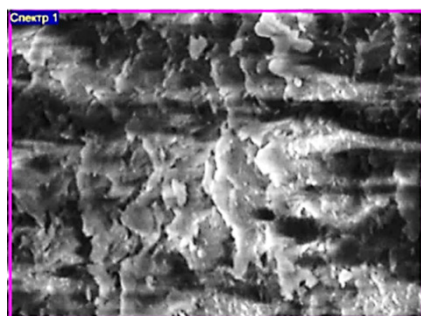
Озono-кислородную смесь получали с помощью медицинского озонатора А-с-ГОКСф-5-02-ОЗОН (Россия), концентратора кислорода AirSep VisionAire (AirSep Corporation, США). Контроль концентрации смеси проводили с помощью специального измерителя ИКО-50 (Россия).

Облучение образцов выполнено в Институте ядерной физики МГУ имени М.В. Ломоносова на линейном ускорителе электронов непрерывного действия УЭЛР-1-25-Т-001. Ускоритель обеспечивает электронный пучок с энергией 1 МэВ и током, регулируемым в диапазоне от 5 нА до 25 мА. Поглощенные дозы составляли 2, 5, 12, 15, 20, 25 кГр, дозиметрический контроль дозы излучения осуществляли с помощью пленочных детекторов-дозиметров СО ПД (Ф)Р5/50 (ГСО 7865-2000).

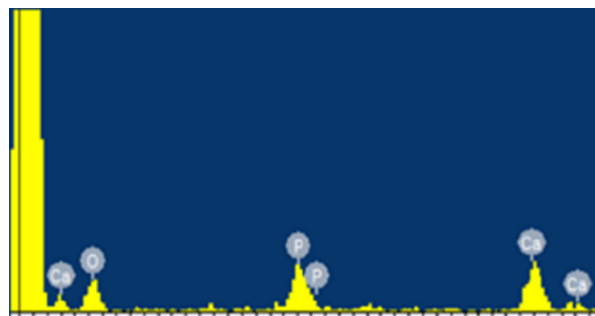
Результаты и их обсуждение

Исследование селективного воздействия озона

Методика комбинированной радиационной стерилизации костных имплантатов была предложена и запатентована еще семь лет назад [3]. Однако, ряд методических вопросов, важных для выработки практических рекомендаций для ее дальнейшего использования в работе тканевых банков, до сих пор были недостаточно изучены. Это в первую очередь относится к последствиям селективного и сочетанного воздействий стерилизующих компонентов

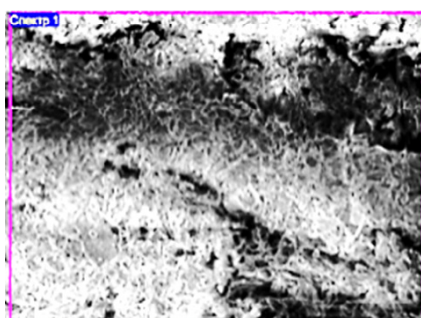


а

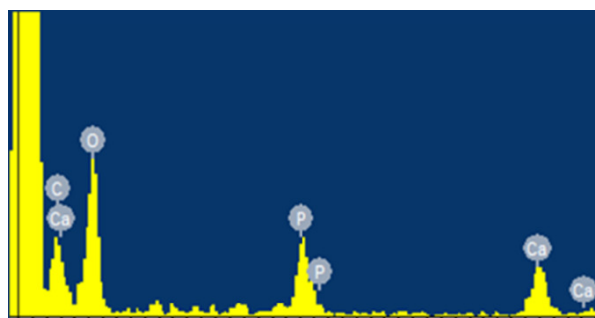


б

Рис. 1. Пример характеристик поверхности костных образцов мамонта без озоновой обработки: а – СЭМ-изображение поверхности костного образца; б – результаты элементного анализа поверхности костных образцов [5]



а



б

Рис. 2. Характеристики поверхности образцов кости мамонта после воздействия озона (8 мг/л, 15 мин): а – СЭМ-изображение поверхности костного образца; б – результаты элементного анализа поверхности костных образцов

двухэтапного процесса стерилизации костного образца. В связи с этим был выполнен анализ влияния селективного озонового воздействия на костные образцы после проведения первичного этапа комбинированной стерилизации. С помощью растрового электронного микроскопа с приставкой для элементного анализа были получены данные о морфологии и элементном составе поверхности костных фрагментов [4].

На приведенных изображениях представлены примеры полученных характеристик поверхности для контрольного (рис. 1) и образца после озонового воздействия (рис. 2).

Сравнительный анализ представленных результатов свидетельствует о том, что озоновое воздействие с концентрацией озон-кислородной смеси 6–8 мг/л и продолжительностью до 20 мин не повлияло на структуру поверхности костных образцов. Вместе с тем, существенно выросло содержание кислорода на поверхности (рис. 2). Причем имеет место выраженная тенденция к росту концентрации кислорода с увеличением времени озонового воздействия (рис. 3). Данный результат показывает, что предлагаемая озоновая обработка не только ослабляет популяцию патогенов и



Рис. 3. Изменение концентрации кислорода в слое костного образца при различной продолжительности озоновой обработки

снижает их радиорезистентность, но и способствует повышению эффективности радиационного воздействия на втором этапе стерилизации благодаря действию кислородного эффекта.

Как показали проведенные модельные оценки, озон в процессе обработки костного фрагмента может эффективно проникать в толщу образца, что обеспечивается уникальной структурой костной ткани с развитой системой внутрикостных пространств различных масштабов – от центральных каналов

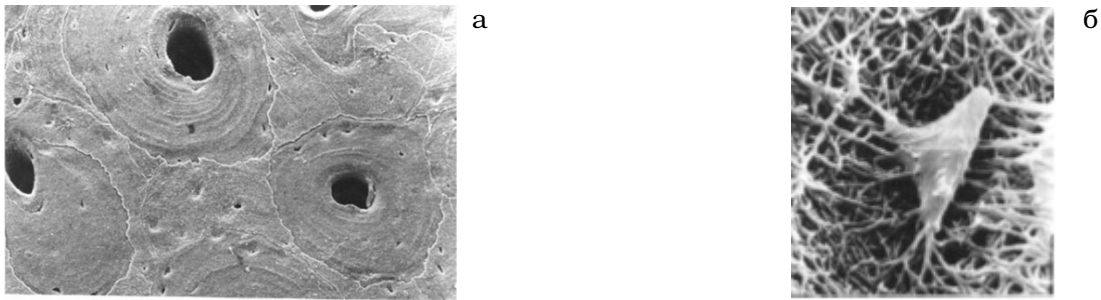


Рис. 4. РЭМ-снимки микроструктуры костных тканей: а – остеоны; б – лакуны; СЭМ $\times 4200$ [6]

остеонов (рис. 4а) до лакуно-канальцевых структур (рис. 4б).

В работе проведена модельная оценка эффективности проникновения озона в костную ткань. Расчеты 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 каналах). В результате была создана 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 имеет следующий вид:

$$-\nabla_n(\alpha_{ij}^{mn}\nabla_m P_j) + \beta_{ij} P_j = g_i, \quad (1)$$

$$\gamma_{ij} \frac{\partial C_j}{\partial t} - \nabla_n(\eta_{ij}^{mn}\nabla_m C_j) + \xi_{ij}^m \nabla_m C_j + \Theta_{ij} C_j = h_i,$$

где P_j и C_j – давления и концентрации в континуумах j ($j=1,2$), α_{ij}^{mn} – коэффициенты проницаемости, β_{ij} – коэффициенты перетока между континуумами давления, η_{ij}^{mn} – коэффициенты диффузии, ξ_{ij}^m – скорости, Θ_{ij} – переток между континуумами концентрации.

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. 5.

Проведенные модельные оценки показали, что пористая структура костной ткани обеспечивает эффективное проникновение озono-кислородной смеси в объем образца при озонной обработке на первом этапе комбинированной радиационной стерилизации. Заполняемость озonom малых пор меньше, чем боль-

ших. Увеличение давления существенно влияет на общую концентрацию в финальный момент времени, что позволяет сделать соответствующие практические рекомендации для корректировки технологического режима стерилизации.

Исследование изменений коллагеновых структур образцов

В работе получены новые оценочные результаты, относящиеся к обнаружению остаточного коллагена в кости мамонта и изучению его изменения при различных воздействиях. Коллаген играет большую роль в палеонтологических (например, при определении возраста останков) и других исследованиях.

Зарегистрированные ИК-спектры дают информацию о внутренней структуре образцов (белковых, минеральных компонентах костной ткани). Полученные результаты приведены в табл. 1. Проведенный сравнительный анализ показал, что коллаген кости мамонта находится в хорошей сохранности, вероятно, из-за условий мерзлоты.

Исследование влияния радиационного облучения на костную ткань показало, что уровень повреждений коллагена – основного структурного белка кости, напрямую зависит от поглощенной дозы излучения [5]. Эксперименты по селективному радиационному облучению образцов костной ткани быстрыми электронами выявили пороговый эффект. При поглощенной дозе 25 кГр и выше наблюдалось исчезновение некоторых характерных полос в инфракрасных (ИК) спектрах, соответствующих специфическим колебательным модам коллагеновых молекул. Это указывает на существенную деградацию белка, приводящую к нарушению его вторичной и третичной структур.

На рис. 6, иллюстрирующем ИК-спектроскопические данные, отчетливо видны различия между контрольным образцом (синий

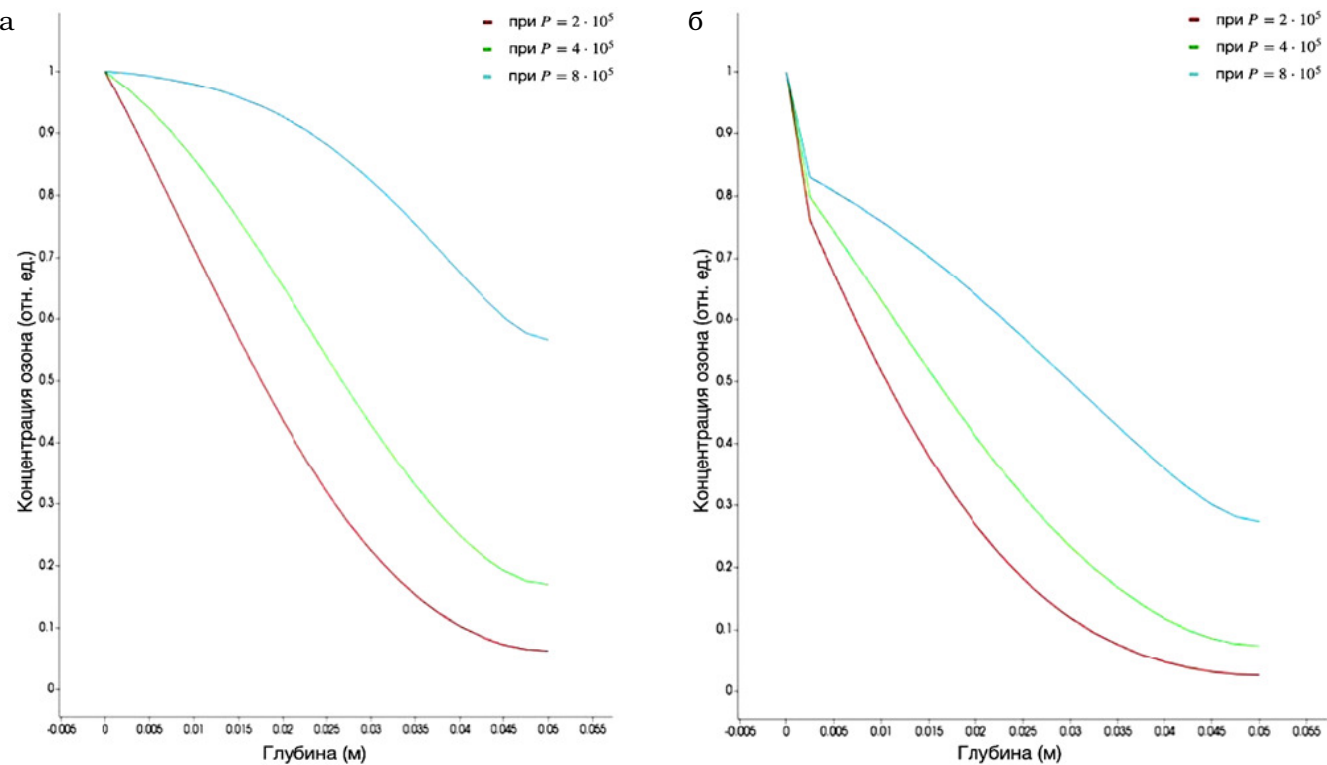


Рис. 5. Концентрация озона в зависимости от глубины для континуума больших пор (а) и континуума малых пор (б)

спектр), образцами после облучения дозами 12 кГр (красный спектр) и 20 кГр (черный спектр). Образец, подвергнутый облучению дозой 12 кГр, демонстрирует сохранение основных полос поглощения, характерных для коллагена. Однако при дозе 20 кГр наблюдается заметное снижение интенсивности этих пиков, подтверждающее частичную деградацию коллагена и, как следствие, ухудшение механических свойств костной ткани.

Таким образом, комбинированный метод обработки, включающий предварительную обработку озоном перед радиационным облуче-

нием с применяемой дозой 12 кГр, не привел к значительной деградации коллагена. Данный результат подтверждает гипотезу о потенциальном синергетическом эффекте озона и радиации, связанном с модификацией поверхностных свойств костной ткани и, следовательно, уменьшением радиационного повреждения.

Для исследования коллагена, основного структурного белка соединительной ткани, играющего критическую роль в поддержании целостности органов и тканей, в работе использована атомно-силовая микроскопия (АСМ). На микроскопическом уровне коллаген образует

Таблица 1

Преобладающие органические соединения костной ткани	
Спектры	Органические соединения
1673 см ⁻¹	Поглощение функциональной группы амида I (пептид C = O, растягивающий вибрацию коллагена), которая представляет собой органический матрикс кости (коллаген I типа).
1504,25 см ⁻¹ , 1450,89 см ⁻¹ , 1423,23 см ⁻¹	Полоса амида II, обусловлена сочетанием режимов растяжения C–N и изгиба N–H в плоскости.
1029,29 см ⁻¹	Соответствует нормальным модам ν_1 и ν_3 апатитового фосфат-иона.
871,9 см ⁻¹	Карбонат ν_2 .
562,74 и 603,4 см ⁻¹	Соответствует моде изгиба ν_4 апатитового фосфат-иона.

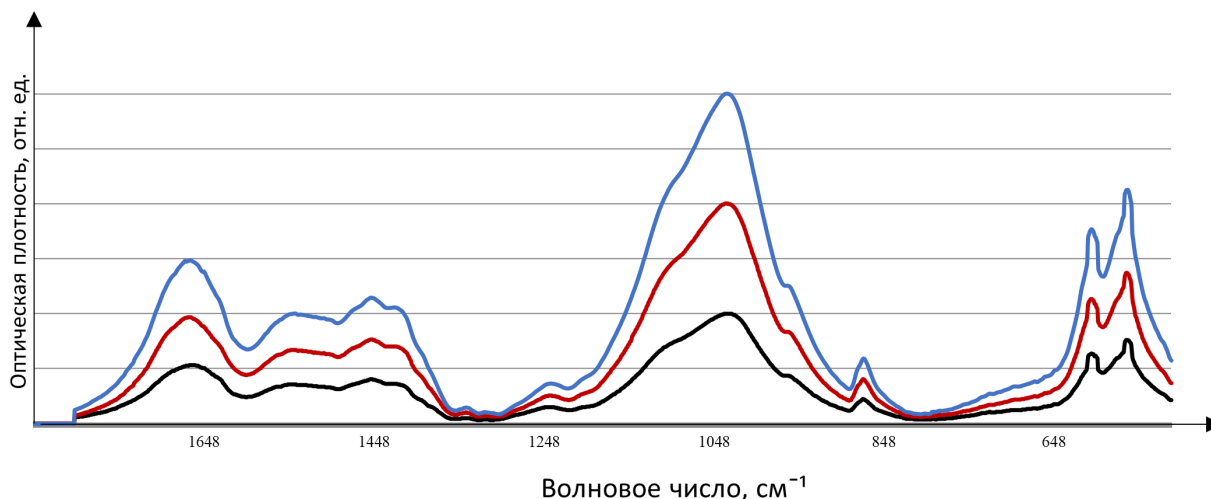


Рис. 6. Результаты исследований на ИК-спектрометре: спектры контрольного образца (синий); образца после облучения при 12 кГр (красный) и при 20 кГр (черный)

сложные, иерархически организованные структуры: от отдельных молекул в составе микрофибрилл, до более крупных коллагеновых фибрилл, формирующих волокна и, наконец, пучки волокон, создающие трехмерный внеклеточный матрикс (ВКМ). Именно эти структуры, их организация становятся объектом пристального внимания при изучении различных патологических процессов, включая реакцию на ионизирующее излучение.

Исследования, проведенные с помощью АСМ, позволяют визуализировать ВКМ с высоким разрешением, регистрацией изменений в расположении и структуре коллагеновых волокон в масштабе от нескольких микрон до десятков микрон. Это особенно ценно при анализе влияния различных факторов, к примеру, ионизирующего излучения, на целостность соединительной ткани.

В данной работе сравнивали контрольные образцы (рис. 7) и образцы, подвергнутые воздействию ионизирующего излучения

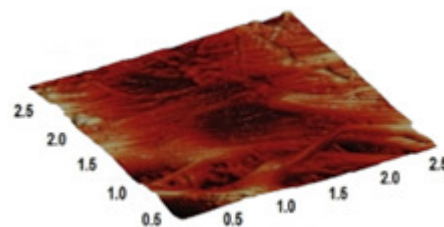
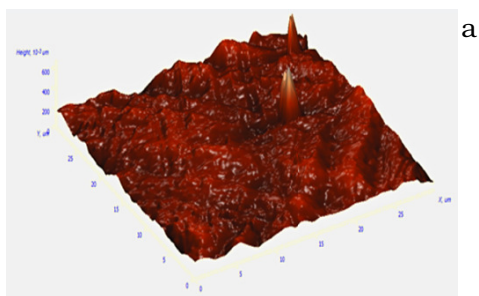
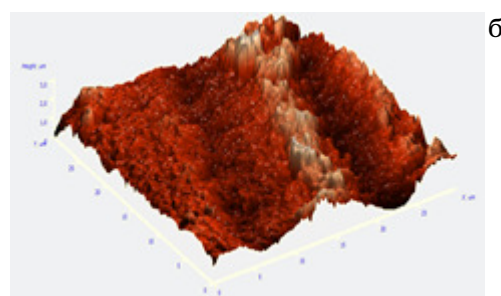


Рис. 7. Пример АСМ-визуализации для контрольного образца

(рис. 8, 10, 11). Использование разных доз облучения позволило проследить дозозависимые изменения структуры коллагена. Доза в 20 кГр, например, привела к отчетливо видимым изменениям коллагеновых волокон и разрушению матрикса, что визуализировалось на АСМ-изображениях (рис. 8, 10, 11). Наблюдаемые изменения поверхности могут быть связаны как с прямой деградацией коллагеновых волокон, так и с косвенными эффектами, такими



а



б

Рис. 8. АСМ-изображения структур коллагеновых фибрилл после комбинированного воздействия: а – 12 кГр, б – 20 кГр

как образование свободных радикалов и перекрестных сшивок между молекулами коллагена, что приводит к изменению их пространственного расположения и агрегации. Данные других авторов [7] указывают на нарушение морфологической структуры коллагена при дозах радиации выше 15 кГр. Это сопоставимо с результатами исследователей, установившими значительное уменьшение интенсивности пиков в ИК-спектрах при увеличении дозы. Топографические изображения высокого разрешения, полученные с помощью АСМ, позволили детально изучить коллагеновые волокна и их внутреннюю структуру.

В костной ткани (в норме) наблюдается характерное переплетение коллагеновых фибрилл и их пучков, образующих упорядоченную структуру. Однако, под воздействием ионизирующего излучения эта упорядоченность нарушается. АСМ-визуализация показала, что облученные образцы демонстрируют деформацию, фрагментацию и укорочение коллагеновых фибрилл по сравнению с контрольными образцами. Это указывает на разрушение белковых структур под воздействием радиации. Кроме того, визуализация с высоким разрешением выявила увеличение неровностей поверхности коллагеновых пучков в облученных образцах, что может коррелировать с уменьшением прочности на сжатие. В результате кость, прошедшая стерилизацию при дозе облучения 20 кГр и выше, будет подвергаться разрушению.

Важно отметить, что эффект ионизирующего излучения на коллаген зависит не только

от дозы, но и от длительности экспозиции, а также от типа и состояния ткани. “Старая” соединительная ткань, как правило, менее устойчива к повреждениям, и последствия облучения могут быть более выраженными. Более того, АСМ не только визуализирует изменения структуры коллагена, но и позволяет проводить количественные измерения. Можно определить среднюю толщину коллагеновых фибрилл, расстояние между ними, степень их ориентации и другие параметры. Эта количественная информация необходима для более глубокого понимания механизмов повреждения коллагена под воздействием различных экзогенных факторов. В сочетании с другими методами исследования, такими как электронная микроскопия, спектроскопия, биохимический анализ АСМ обеспечивает комплексный подход к изучению коллагена и его роли в физиологических и патологических процессах.

Исследование морфо-механических характеристик

Изучение результатов воздействия радиации на физические свойства образцов показало значительные изменения их структуры и свойств [5, 7–10]. В частности, отмечено снижение предела прочности и изменение до 25 % упругих деформаций, изменения на стадии разрушения и текучести. Зависимости изменения механических характеристик представлены на рис. 9. В ходе испытаний было установлено, что наименьшие изменения наблюдались для модуля упругости, а наибольшие – для мо-

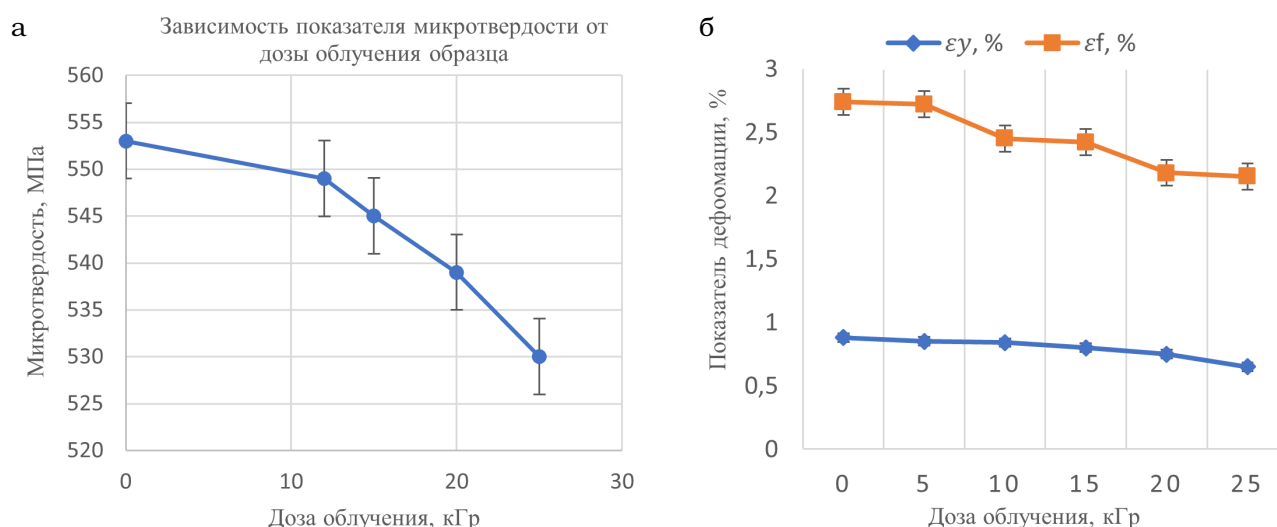


Рис. 9. Механические характеристики образцов при увеличении дозовой нагрузки: а – микротвердость; б – показатели деформации: текучести (синий), разрушения (оранжевый)

Таблица 2

Значение показателя микротвердости образцов при увеличении дозовой нагрузки

№	Вид и параметры стерилизующего воздействия на костный фрагмент	Параметры обработки	Микротвердость, МПа ($M \pm SD$)
1	Контрольный образец	–	553 ± 1
2	Озоно-кислородная смесь	Концентрация (6–8 мг/л)	550 ± 1
3	Радиационная стерилизация	Доза облучения (12 кГр)	549 ± 2
4	Комбинированный способ	Доза облучения (12 кГр)	547 ± 2
5	Радиационная стерилизация	Доза облучения (15 кГр)	545 ± 2
6	Комбинированный способ	Доза облучения (15 кГр)	541 ± 2
7	Радиационная стерилизация	Доза облучения (20 кГр)	539 ± 2
8	Комбинированный способ	Доза облучения (20 кГр)	518 ± 2
9	Радиационная стерилизация	Доза облучения (25 кГр)	530 ± 2

дуля вязкости. Таким образом, механические характеристики костных образцов после облучения дозами до 25 кГр показывают значительное уменьшение предела прочности и относительной деформации [8].

Исследование закономерностей изменения морфо-механических характеристик поверхностного слоя образцов после различных методов стерилизации в указанных диапазо-

нах параметров (концентрация озона в озоно-кислородной смеси, доза облучения) и обобщение данных позволяет получить представление о тенденциях изменений в поверхностных слоях и их усреднённых характеристиках (табл. 2).

Полученные с помощью АСМ рельефы поверхностей и РЭМ-изображения костной ткани при разных увеличениях (рис. 10, 11) демон-

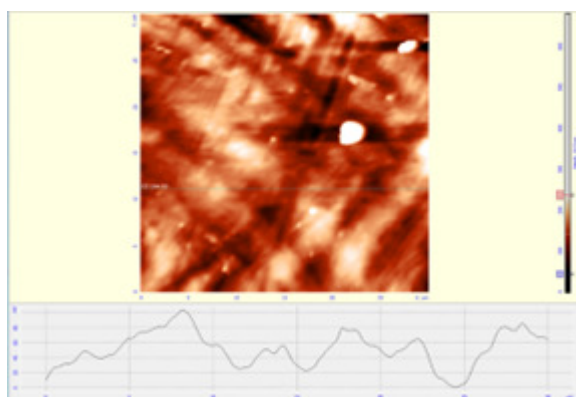


Рис. 10. Рельеф поверхности образца (АСМ) и его микрофотография (РЭМ) после воздействия радиации с дозой 12 кГр

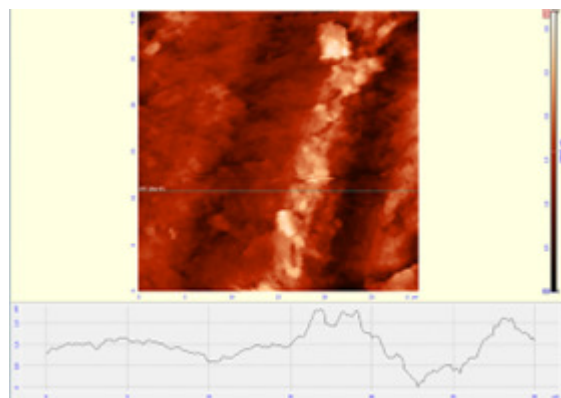


Рис. 11. Рельеф поверхности образца (АСМ) и его микрофотография (РЭМ) после воздействия радиацией с дозой 20 кГр

стрируют существенное изменение их рельефа, появление трещин на поверхности образцов при стерилизации дозами 15 кГр и выше, что подтверждает изменения структуры и механических свойств. Сравнительный анализ показал, что оптимальная дозовая нагрузка для обеспечения стерильности составляет 12 кГр.

По результатам различных методов стерилизации, включая предложенный комбинированный подход, было проведено микробиологическое тестирование образцов на стерильность с использованием сред Сабуро и тиогликолевой. Экспериментальные образцы, прошедшие комбинированное воздействие с заданными параметрами, демонстрируют стерильность при сохранении их нативных свойств, что подтверждает эффективность предлагаемого метода.

В радиационной стерилизации озон обычно не используется как активный агент, однако при комбинированной радиационной стерилизации кислород может влиять на процесс. Эксперименты показали, что озоновое воздействие, даже в небольших дозах, существенно усиливает бактерицидный эффект, снижая радиорезистентность патогенов и повышая эффективность радиационной обработки, в том числе и за счет кислородного эффекта. Таким образом, комбинированное воздействие на основе озono-кислородной смеси и ионизирующего излучения позволяет достичь синергетического эффекта, обеспечивая эффективную стерилизацию тканей при сохранении их свойств. Микробиологические исследования подтверждают положительный эффект предлагаемой методики. Для минимизации негативных эффектов рекомендуется использовать поглощенную дозу не более 12 кГр.

Заключение

Проведенные исследования подтвердили возможность использования комбинированной методики радиационной стерилизации биологических тканей для обработки образцов тканей ископаемых биобъектов. Последовательная обработка костных фрагментов на первом этапе озono-кислородной смесью невысокой концентрации и ионизирующим излучением с относительно малой величиной поглощенной дозы на втором позволяет достичь необходимую степень стерильности при сохранении исходных морфо-механических характеристик

обрабатываемых объектов, а также остаточного костного коллагена. Проведен комплексный анализ образцов после комбинированной стерилизации с помощью современных физических методов с применением растровой электронной и атомно-силовой микроскопии, ИК-спектроскопии и др. Полученные результаты открывают возможность использования нового перспективного метода обработки биологических образцов ископаемых животных с обеспечением минимально возможных изменений их структуры, свойств и характеристик, установить оптимальные параметры процесса стерилизации образцов. Данная методика может применяться в дальнейшем для работы с различными образцами ископаемых объектов мамонтовой фауны.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта № FSRG-2021-0014 "Разработка и внедрение новых комплексных подходов к изучению актуальных проблем медицины, сельского хозяйства, промышленности, включая обработку драгоценных камней, а также палеонтологию, биологию, вирусологию с использованием спектроскопии, микроскопии и радиационных технологий" и при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета "Фотонные и квантовые технологии. Цифровая медицина". Авторы благодарят Музей Мамонта и Музей Палеонтологического института им. А.А. Борисяка РАН за предоставленные образцы.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Тихонов АН. Мамонт (Серия "Разнообразие животных". Вып. 3). Москва – Санкт-Петербург: Товарищество научных изданий КМК. 2005. 90 с.
Tikhonov AN. Mammoth (Series «Diversity of animals». Vop. 3). Moscow - Saint-Petersburg: Partnership of scientific publications of the KMC. 2005; 90. (In Russ).
2. Głuszewski W, Wojciech B. Nuclear Techniques for Preservation of Cultural Heritage Artifacts. IAEA Radiation Technology Series. 2011; 1 (2): 41.
3. Матвейчук ИВ, Розанов ВВ, Гордонова ИК, Никитина ЗК, Сидельников НИ, Литвинов

- ЮЮ, Николаева АА, Черняев АП, Пантелеев ИВ Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов. Патент № 2630464 Российская Федерация. Опубл. 8.9.2017; заявитель и патентообладатель ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений". № 2016131336; заявл. 29.07.2016, опубл. 08.09.2017, Бюл. №25. Matveychuk IV, Rozanov VV, Gordonova IK, Nikitina ZK, Sidel'nikov NI, Litvinov YuYu, Nikolaeva AA, Chernyaev AP, Panteleev IV Combined method of bone implant sterilization. Patent of Russian Federation N2630464, declared. 29.07.2016, published 08.09.2017, Bulletin. 25. (In Russ).
4. Розанов ВВ, Матвейчук ИВ, Черняев АП, Николаева НА, Саввинова ЛН Исследование структурно-функциональных характеристик поверхности костных имплантатов при комбинированной стерилизации. Известия Российской академии наук. Серия физическая, 2020; 84 (11): 1589-94. <https://doi.org/10.31857/S0367676520110241>.
Rozanov VV, Matveychuk IV, Chernyaev AP, Nikolaeva NA, Savvinova LN Investigation of structural-functional characteristics of bone implant surface upon combined sterilization. Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics, 2020. 84 (11): 1589-94. <https://doi.org/10.31857/S0367676520110241> (In Russ).
 5. Nikolaeva NA, Rozanov VV, Chernyaev AP, Matveychuk IV, Makarova MM The influence of combined sterilization factors on the structural and functional characteristics of bone implants. International Journal of Molecular Sciences. 2023; 24 (19): 14426.
 6. Денисов-Никольский ЮИ, Миронов СП, Омеляненко НП, Матвейчук ИВ Актуальные проблемы теоретической и клинической остеоартрологии. М.: ОАО "Типография "Новости". 2005. 336 с.
Denisov-Nikolsky JuI, Mironov SP, Omeljanenko NP, Matveychuk IV Current problems of theoretical and clinical osteoarthritis. Moscow: JSC "Printing "News". 2005; 336. (In Russ).
 7. Шангина ОР, Нигматуллин РТ Влияние радиационной стерилизации на структуру и свойства биоматериалов. Морфология. 2006; 129 (3): 44.
Shanghina OR, Nigmatullin RT. Influence of radiation sterilization on structure and properties of biomaterials. Morphology. 2006; 129 (3): 44. (In Russ).
 8. Розанов ВВ, Матвейчук ИВ, Черняев АП, Николаева НА Изменения морфо-механических характеристик костных имплантатов при радиационной стерилизации. Известия Российской академии наук. Серия физическая. 2019; 83 (10): 1435-40. <https://doi.org/10.1134/S0367676519040203>.
Rozanov VV, Matveychuk IV, Chernyaev AP, Nikolaeva NA Changes in the Morphological and Mechanical Characteristics of Bone Implants upon Radiation Sterilization. Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics. 2019. 83 (10): 1311-5. <https://doi.org/10.3103/S1062873819040208>.
 9. Nguyen H, Cassady A, Bennett M, et al. Reducing the radiation sterilization dose improves mechanical and biological quality while retaining sterility assurance levels of bone allografts. Bone. 2013; 57 (1): 194-200.
 10. Литвинов ЮЮ, Матвейчук ИВ, Розанов ВВ, Краснов ВВ Влияние способов механической обработки и стерилизации на структурно-функциональное состояние поверхностного слоя костных образцов. Российский журнал биомеханики. 2021; 25 (2): 186-91. <https://doi.org/10.15593/RZhBiomeh/2021.2.06>.
Litvinov YY, Matveychuk IV, Rozanov VV, Krasnov VV Influence of the methods of mechanical processing and sterilization on the structural-and-functional condition of the surface layer of bone samples. Russian Journal of Biomechanics. 2021; 25 (2): 186-91. <https://doi.org/10.15593/RJBiomech/2021.2.06>.