

ISSN 2075-3810 (print)
ISSN 2075-3829 (online)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Біофізичний Вісник

Випуск 45

Заснований 1998 р.

Харків 2021

Біофізичний вісник публікує наукові статті, короткі повідомлення та огляди, які містять оригінальні результати розв'язання фізико-математичних та інженерно-технічних проблем, що відносяться до біологічних систем різного рівня організації, методами експериментальної і теоретичної фізики, математичного та комп'ютерного моделювання. Журнал виходить 2 рази на рік.

Свідоцтво про державну реєстрацію: КВ № 11007 від 17.02.2006.

ISSN 2075-3829 (Online)

ISSN 2075-3810 (Print)

Біофізичний вісник є фаховим виданням України категорії «Б» у галузях наук: 10 Природничі науки за спеціальностями 104 Фізика та астрономія, 105 Прикладна фізика та наноматеріали; 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія; 16 Хімічна та біоінженерія за спеціальністю 163 Біомедична інженерія (Наказ Міністерства освіти і науки України № 1643 від 28.12.2019).

Всі статті проходять внутрішнє та зовнішнє подвійне сліпе рецензування.

Номер затверджено до друку рішенням Вченої ради Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (протокол № 7 від 29.06.2021).

Журнал має Digital Object Identifier: **10.26565/2075-3810**.

Головний редактор

Косевич М. В., Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б. І. Веркіна НАН України, Україна

Заступник головного редактора

Катрич В. О., Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

Відповідальний секретар

Берест В. П., Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

Члени редколегії

Аврунін О. Г., Харківський національний університет радіоелектроніки, Україна

Баранник Є. О., Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

Горбенко Г. П., Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

Довбешко Г. І., Інститут фізики НАН України, Україна

Злепко С. М., Вінницький національний технічний університет, Україна

Карачевцев В. О., Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б. І. Веркіна НАН України, Україна

Кнігавко В. Г., Харківський національний медичний університет, Україна

Осецький О. І., Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Україна

Павлов С. В., Вінницький національний технічний університет, Україна

Перський Є. Е., Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

Семенов М. О., Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова НАН України, Україна

Соляник Г. І., Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Україна

Степаньян С. Г., Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б. І. Веркіна НАН України, Україна

Ткачук Р. А., Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, Україна

Трусова В. М., Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

Узленкова Н. Є., Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України, Україна

Шестопалова Г. В., Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова НАН України, Україна

Андрущенко В., Інститут органічної хімії та біохімії Чеської Академії Наук, Чеська Республіка

Беднарчик П., Варшавський університет сільського господарства, Польща

Біндер Х., Лейпцизький університет, Німеччина

Буркіна В., Університет Південної Богемії в Чеських Будейовицях, Чеська Республіка

Доманов Є., Центр Досліджень та інновацій Л'Ореаль, Франція

Фельдман Ю., Єврейський університет в Єрусалимі, Ізраїль

Мірошниченко Д., Онкологічний центр та науково-дослідний інститут ім. Х. Лі Моффіта, США

Рева І., Університет Коїмбри, Португалія

Руткаускас Д., Центр фізичних наук і технологій, Литва

Штис Д., Університет Південної Богемії в Чеських Будейовицях, Чеська Республіка

Яковенко С., Університет Західної Вірджинії, Медичний факультет, США

Замаратська Г., Шведський Університет аграрних наук, Швеція

Горобченко О. О., Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна – *технічний редактор*

Жигалова Н. М., Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна – *технічний секретар*

Біофізичний вісник індексується: Національною бібліотекою України імені В.І. Вернадського; Directory of Open Access Journals (DOAJ); Бібліографічною базою даних WorldCat; CAS (Chemical Abstracts Service); Google Scholar; Ulrichsweb; Bielefeld Academic Search Engine (BASE); Index Copernicus.

Адреса редколегії та видавництва:

Кафедра молекулярної і медичної біофізики,
Факультет радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем,
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,
майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

Tel: +38-057-707-55-76

E-mail: biophys-visnyk@karazin.ua

Web-page: <http://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk>

ISSN 2075-3810 (print)
ISSN 2075-3829 (online)

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE
V. N. Karazin Kharkiv National University

Biophysical Bulletin

Issue 45

Founded in 1998

Kharkiv 2021

Biophysical Bulletin publishes original scientific articles, short communications and reviews dealing with physical, mathematical, and engineering problems pertaining to biological systems and solved by methods of experimental and theoretical physics, mathematical modeling and computer simulation. The journal is published twice a year.

Certificate of state registration: KB № 11007 of 17.02.2006.

ISSN 2075-3829 (Online)

ISSN 2075-3810 (Print)

All manuscripts are double blind peer-reviewed by at least two reviewers.

Approved for publication by the Academic Council of V. N. Karazin Kharkiv National University (June 29, 2021, Protocol No. 7).

Biophysical Bulletin has Digital Object Identifier: **10.26565/2075-3810**.

Editor-in-Chief

M. V. Kosevich, B. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the NAS of Ukraine, Ukraine

Deputy Editor-in-Chief

V. A. Katrich, V. N. Karazin Kharkiv National University,
Ukraine

Executive Secretary

V. P. Berest, V. N. Karazin Kharkiv National University,
Ukraine

Editorial Board

O. G. Avrunin, Kharkiv National University of Radio Electronics,
Ukraine

E. O. Barannik, V. N. Karazin Kharkiv National University,
Ukraine

G. P. Gorbenko, V. N. Karazin Kharkiv National University,
Ukraine

G. I. Dovbeshko, Institute of Physics of the NAS of Ukraine,
Ukraine

V. O. Karachevtsev, B. Verkin Institute for Low Temperature
Physics and Engineering of the NAS of Ukraine, Ukraine

V. G. Knigavko, Kharkiv National Medical University, Ukraine

A. I. Osetski, Institute for Problems of Cryobiology and
Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Ukraine

S. V. Pavlov, Vinnytsia national technical university, Ukraine

Ye. E. Perskiy, V. N. Karazin Kharkiv National University,
Ukraine

M. O. Semenov, O. Ya. Usikov Institute for Radio Physics and
Electronics of the NAS of Ukraine, Ukraine

A. V. Shestopalova, O. Ya. Usikov Institute for Radio Physics and
Electronics of the NAS of Ukraine, Ukraine

G. I. Solyanik, R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology of the NAS of Ukraine, Ukraine

S. G. Stepanian, B. Verkin Institute for Low Temperature Physics
and Engineering of the NAS of Ukraine, Ukraine

R. A. Tkachuk, Ternopil Ivan Puluj National Technical University,
Ukraine

V. M. Trusova, V. N. Karazin Kharkiv National University,
Ukraine

N. E. Uzenkova, SI "Grigoriev Institute for Medical
Radiology of National Academy for Medical Sciences",
Ukraine

S. M. Zlepko, Vinnytsia national technical university, Ukraine

V. Andrushchenko, Institute of Organic Chemistry and
Biochemistry of the Academy of Science of Czech
Republic, Czech Republic

P. Bednarczyk, Warsaw University of Life Sciences, Poland

H. Binder, Leipzig University, Germany

V. Burkina, University of South Bohemia in České
Budějovice, Czech Republics

Ye. Domanov, L'Oréal Research & Innovation, France

Yu. Feldman, The Hebrew University of Jerusalem, Israel

D. Miroshnichenko, H. Moffitt Cancer Center and Research
Institute, USA

I. Reva, Universidade de Coimbra, Portugal

D. Rutkauskas, Centre for Physical Sciences and Technology,
Lithuania

D. Štys, University of South Bohemia in České Budějovice,
Czech Republics

S. Yakovenko, West Virginia University, School of Medicine,
USA

G. Zamaratskaia, Swedish University of Agricultural
Sciences, Sweden

O. O. Gorobchenko, V. N. Karazin Kharkiv National
University, Ukraine – *Technical Editor*

N. M. Zhyhalova, V. N. Karazin Kharkiv National
University, Ukraine – *Technical Secretary*

Biophysical Bulletin is indexed in: Vernadsky National Library of Ukraine; Directory of Open Access Journals (DOAJ); WorldCat; CAS (Chemical Abstracts Service); Google Scholar; Ulrichsweb; Bielefeld Academic Search Engine (BASE); Index Copernicus.

Editorial Office and Publisher:

Department of Molecular and Medical Biophysics
School of Radio Physics, Biomedical Electronics and Computer Systems
V. N. Karazin Kharkiv National University,
4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

Tel: +38-057-707-55-76

E-mail: biophys-visnyk@karazin.ua

Web-page: <http://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk>

ЗМІСТ**БІОМЕДИЧНА ІНЖЕНЕРІЯ**

D. O. Batrakov , V. V. Palamarchuk , V. I. Tremtyachy
Numerical modeling of implant surgery and rehabilitation of humerus bone fractures
for the elderly patients 7–20

О. М. Перепелиця
Сегментація дентальної рентгенограми при ендодонтчному лікуванні 21–31

БІОФІЗИКА КЛІТИНИ

Т. М. Овсяннікова, А. О. Коваленко, В. П. Берест, О. Ю. Боріков
Зміни електрофізичних характеристик еритроцитів,
індуковані граміцидином С 32–43

ХРОНІКА

В. П. Берест, М. В. Косевич
ВІТАЄМО З 70-РІЧЧЯМ!
(до ювілею професора Лонгіна Миколайовича Лисецького) 44–45

Г. І. Довбешко
Пам'яті Дмитра Миколайовича Говоруна 46–47

CONTENTS**BIOMEDICAL ENGINEERING**

D. O. Batrakov , V. V. Palamarchuk , V. I. Tremtyachy
Numerical modeling of implant surgery and rehabilitation of humerus bone fractures for the elderly patients 7–20

O. M. Perepelytsia
Segmentation of dental X-ray in endodontic treatment 21–31

CELL BIOPHYSICS

T. M. Ovsyannikova, A. O. Kovalenko, V. P. Berest, O. Yu. Borikov
Changes in electrophysical characteristics of red blood cells induced by gramicidin S 32–43

CHRONICLE

V. P. Berest, M. V. Kosevich
Congratulations on the 70th anniversary of professor Longin N. Lisetski 44–45

G. I. Dovbeshko
In memory of Dmytro M. Hovorun 46–47

Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-01>

UDC 57.089.67:612.76:577.35

NUMERICAL MODELING OF IMPLANT SURGERY AND REHABILITATION OF HUMERUS BONE FRACTURES FOR THE ELDERLY PATIENTS

D. O. Batrakov¹, V. V. Palamarchuk², V. I. Tremtyachy²

¹Kharkiv V. N. Karazin National University, School of Radiophysics, Biomedical Electronics and Computer Systems, 4 Svobody Square, Kharkiv, 61022, Ukraine,
e-mail: Batrakov@karazin.ua

²Kharkiv City Clinical Hospital of Emergency and Emergency Medical Care named after prof. A. I. Meshchaninov, 2nd Traumatology Department, 3-A Balakireva lane, Kharkiv, 61103, Ukraine

Submitted March 9, 2021; Revised March 21, 2021;

Accepted March 24, 2021

Background: Implantation is becoming more widespread in such areas of modern medicine as orthopedics and traumatology. Due to the lack of an adequate substitute for natural bone, combined approaches are used. For older patients, the problem is exacerbated by a decrease in bone mineral density. When choosing a scheme for the surgical treatment of long bone fractures, preference is given to simple and maximally sparing approaches. In this regard, the main task of osteosynthesis is to provide optimal mechanical channels not only for the fracture healing process, but also to restore full functional capabilities in the future. The paper considers the urgent task of optimizing and increasing the efficiency of planning rehabilitation measures, including taking into account the individual characteristics of a particular patient, and the results are of fundamental and applied importance.

Objectives: development of physical and mathematical models for modeling the stress-strain state of the elements of the musculoskeletal system to optimize the planning of bone surgeries when installing implants.

Materials and methods. For the analysis, both specific clinical results and modern methods of computer modeling and processing of results were used. The advantage of physical and mathematical models based on the used finite element method is the possibility of optimizing the design of prostheses and reducing the problems caused by osteopenia.

Results: To illustrate the proposed approach, a specific example of the treatment of a comminuted fracture of the humerus in an elderly patient is considered. To describe the physicomaterial properties of bone tissue, sets of standard data on the main characteristics of tissues and materials of implants such as elastic modulus and Poisson's ratio were used. As the bone grows together, simultaneously with a decrease in stresses, the difference between the stress on the entire structure and the stress on the bone decreases. This indicates that the bone begins to take on an increasingly significant relative part of the load, which should have a positive effect on its bone mineral density.

Conclusions: The advantages of modeling using the finite element method and by non-invasive modeling of the work of the patient's musculoskeletal system with various variants of prostheses (implants) and the choice of the most optimal one are shown. It was found that the use of the Von Mises stress-strain state as a criterion for assessing the stress-strain state of the system gives effective assessments of the reliability of the structure and its elements.

KEY WORDS: implants; fracture of the humerus; postoperative rehabilitation; von Mises stress; numerical modeling.

ЧИСЕЛЬНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ПРИ ХІРУРГІЇ ТА РЕАБІЛІТАЦІЇ ПЕРЕЛОМІВ ПЛЕЧОВОЇ КІСТКИ У ПОХИЛИХ ПАЦІЄНТІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ІМПЛАНТАТІВ

Д. О. Батраков¹, В. В. Паламарчук², В. І. Третьячий²

¹Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, факультет радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна.

e-mail: Batrakov@karazin.ua

© Batrakov D.O., Palamarchuk V.V., Tremtyachy V.I., 2021. **Open Access.** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>

Cite this article: Batrakov DO, Palamarchuk VV, Tremtyachy VI. Numerical modeling of implant surgery and rehabilitation of humerus bone fractures for the elderly patients. Biophysical Bulletin. 2021;45:7–20. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-01>

²Комунальне некомерційне підприємство «Харківська міська клінічна лікарня швидкої та невідкладної медичної допомоги ім. проф. А. І. Мещанінова» Харківської міської ради, травматологічне відділення №2, пров. Балакірева, 3-А, м. Харків, 61103, Україна

Актуальність. Імплантація набуває все більшого поширення в таких областях сучасної медицини, як ортопедія і травматологія. Зважаючи на відсутність адекватного заміника натуральної кістки, використовують комбіновані підходи. Для літніх пацієнтів проблема посилюється зниженням мінеральної щільності кісткової тканини. При виборі схеми оперативного лікування переломів довгих кісток перевагу віддають простим і максимально щадним підходам. У зв'язку з цим основне завдання остеосинтеза полягає в забезпеченні оптимальних механічних умов не тільки для процесу зрощування перелому, але й для відновлення в подальшому повноцінних функціональних можливостей. В роботі розглянута актуальна задача оптимізації і підвищення ефективності планування реабілітаційних заходів, в тому числі і з урахуванням індивідуальних особливостей конкретного пацієнта. Отримані результати мають фундаментальне й прикладне значення.

Мета роботи: створення фізико-математичних моделей для моделювання напружено-деформованого стану елементів опорно-рухового апарату для оптимізації планування операцій на кістках при установці імплантатів.

Матеріали та методи. Для аналізу в роботі використовувалися як конкретні клінічні результати, так і сучасні методи комп'ютерного моделювання та обробки результатів. Перевагою фізико-математичних моделей на основі використаного методу скінченних елементів є можливість оптимізації конструкції протезів і зниження проблем, викликаних остеопенією.

Результати. Для ілюстрації пропонованого підходу розглянуто конкретний приклад лікування осколкового перелому плечової кістки у літньої пацієнтки. Для опису фізико-механічних властивостей кісткової тканини були використані набори стандартних даних про основні характеристики тканин і матеріалів імплантатів — модуля пружності і коефіцієнта Пуассона. По мірі зрощування кістки одночасно зі зниженням напружень відбувається зменшення різниці між напругою на всій конструкції і напругою на кістці. Це свідчить про те, що кістка починає приймати на себе дедалі більшу відносну частину навантаження, що має позитивно впливати на її мінеральну щільність.

Висновки. Показано переваги моделювання із залученням методу кінцевих елементів і шляхом неінвазивного моделювання роботи опорно-рухової системи пацієнта з різними варіантами протезів (імплантатів) і вибір найбільш оптимального з них. Встановлено, що використання в якості критерію оцінки напружено-деформованого стану системи імплантат-кістка напруги по Мізесу дає ефективні оцінки надійності роботи конструкції і її елементів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: імплантати; перелом плечової кістки; післяопераційна реабілітація; напруги по Мізесу; чисельне моделювання.

ЧИСЛЕННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРИ ХИРУРГИИ И РЕАБИЛИТАЦИИ ПЕРЕЛОМОВ ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ У ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ ИМПЛАНТАТОВ

Д. О. Батраков¹, В. В. Паламарчук², В. И. Третьячий²

¹Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, факультет радиофизики, биомедицинской электроники и компьютерных систем. пл. Свободы, 4, Харьков, 61022, Украина;
e-mail: Batrakov@karazin.ua

²Коммунальное некоммерческое предприятие «Харьковская городская клиническая больница скорой и неотложной медицинской помощи им. проф. А.И. Мещанинова» Харьковского городского совета, травматологическое отделение №2, переулок Балакирева 3-А, г. Харьков, 61103, Украина

Актуальность. Имплантация получает все большее распространение в таких областях современной медицины, как ортопедия и травматология. Ввиду отсутствия адекватного заменителя натуральной кости, используют комбинированные подходы. Для пожилых пациентов проблема усугубляется снижением минеральной плотности костной ткани. При выборе схемы оперативного лечения переломов длинных костей предпочтение отдают простым и максимально щадящим подходам. В этой связи основная задача остеосинтеза состоит в обеспечении оптимальных механических условий не только для процесса сращения перелома, но и для восстановления в дальнейшем полноценных функциональных возможностей. В работе рассмотрена актуальная задача оптимизации и повышения эффективности планирования реабилитационных мероприятий, в том числе и с учетом индивидуальных особенностей конкретного пациента. Полученные результаты имеют фундаментальное и прикладное значение.

Цель работы: создание физико-математических моделей для моделирования напряженно-деформированного состояния элементов опорно-двигательного аппарата для оптимизации планирования операций на кости при установке имплантатов.

Материалы и методы. Для анализа в работе использовались как конкретные клинические результаты, так и современные методы компьютерного моделирования и обработки результатов. Преимуществом физико-математических моделей на основе использованного метода конечных элементов является возможность оптимизации конструкции протезов и снижение проблем, вызванных остеопенией.

Результаты. Для иллюстрации предлагаемого подхода рассмотрен конкретный пример лечения оскольчатого перелома плечевой кости у пожилой пациентки. Для описания физико-механических свойств костной ткани были использованы наборы стандартных данных об основных характеристиках тканей и материалов имплантатов — модуля упругости и коэффициента Пуассона. По мере сращения кости одновременно со снижением напряжений происходит уменьшение разницы между напряжением на всей конструкции и напряжением на кости. Это свидетельствует о том, что кость начинает принимать на себя все более значительную относительную часть нагрузки, что должно позитивно влиять на ее минеральную плотность.

Выводы. Показаны преимущества моделирования с привлечением метода конечных элементов и путем неинвазивного моделирования работы опорно-двигательной системы пациента с различными вариантами протезов (имплантатов) и выбор наиболее оптимального из них. Установлено, что использование в качестве критерия оценки напряженно-деформированного состояния системы имплантат-кость напряжения по Мизесу дает эффективные оценки надежности работы конструкции и ее элементов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: имплантаты; перелом плечевой кости; послеоперационная реабилитация; напряжения по Мизесу; численное моделирование.

One of the features of the modern stage of scientific progress is the development of new methods that are located at the junction of various fields of knowledge. Despite the fact that biophysics itself is at the intersection of biology and physics, new directions are also emerging within this area of knowledge. They rely on the one hand on existing treatment technologies related to the placement of implants, and on the other hand on the widely used Computer Aided Engineering (CAE) systems. Significant advances in the implementation of existing technologies have been achieved in such areas as dentistry [1], as well as traumatology and orthopedics [2, 3]. At the same time, works related to orthopedics and traumatology can be conditionally divided into two main areas. The first area includes [2], where the authors analyze “the experience of treating 140 victims in the trauma department of the Kharkiv Regional Clinical Trauma Hospital. Treatment of patients with fractures of the tibia, humerus and femur was carried out by the method of blocking intramedullary osteosynthesis (BIOS), various rods and navigation systems from different manufacturers. The errors and complications characteristic of this technique are analyzed, the reasons and the ways of their prevention are indicated”.

However, with this approach, in fact, only fait accompli facts are stated, and only a probabilistic assessment of possible consequences is given. But each individual patient, first of all, is interested in the result in his case. Therefore, for successful prediction, methods of data analysis and the results of calculations of the operation of the entire implant-bone system are required. The problem in this formulation of the problem belongs to the second direction. The main task is to calculate the strength of the "implant-bone" system. The task itself depends on the specifics of the means used. For example, when using a lockable Bliskunov fixator, it is necessary to study the stress-strain state of the osteosynthesis system, which was done in [3]. The authors note that to study the stress-strain state (SSS) of mechanical orthopedic structures, both analytical or numerical calculations and full-scale or model experiments can be used. The term "analytical calculations" in mathematical physics usually combines methods and algorithms that allow one to obtain a solution in a closed form with any predetermined accuracy. In practice, the application of these methods is usually limited to problems with a fairly simple

geometry, boundary conditions, and loads (sources). In a clinical setting, carrying out field experiments using metal osteosynthesis, which requires the use of special load and deformation sensors, is an extremely difficult and expensive task. But the main thing is that carrying out such model experiments requires additional substantiation of the adequacy of the results obtained to the basic models [3]. Unlike analytical methods, numerically oriented methods for studying the stress-strain state of mechanical systems do not have such severe restrictions. They make it possible to vary the geometric parameters of structural elements and the physical and mechanical properties of materials over a wide range. Continuous progress in the field of computing also contributes to the increasing application of mathematical modeling methods in various fields of science. The most popular for solving problems of mathematical modeling (including problems of biomechanics, orthopedics and traumatology) is the finite element method [4–10]. This method was used to study the behavior of the humerus [3] and hip joints (Femoral Stems) [4], the problems of bone strength [5], simulate the augmentation of the hip bone (femoral bone augmentation) [6], study the features of treatment of Bennett's fractures [7], mechanical properties of the vertebrae [8] and the proximal femur [9]. A more detailed review of the features of the use of finite element method — FEM in solving problems of biomechanics and orthopedic surgery is given in [10].

Summarizing the results obtained, it should be noted that, despite a significant number of works devoted to the problems of biomechanics and traumatology, many important problems have not yet been studied in detail. In particular, as noted in [11–13], a decrease in bone mineral density (BMD) after 70 years leads to profound changes in the mechanical properties of bone tissue. There is a direct relationship between the modulus of elasticity, which characterizes the stiffness of a material, and the ultimate strength with age. It is assumed that the change in the biomechanical properties of bone with age is associated not only with a decrease in BMD, but also with a qualitative change in collagen, bone binder - mucopolysaccharides, and structural changes in the bone. This requires, in particular, additional study of the effect of changes in the characteristics of materials (primarily the modulus of elasticity) on the operation of the bone-implant structure. Another important issue is the criteria for assessing the stress-strain state and limit states of a structure with an implant. Currently, there are four criteria (hypotheses) of strength in mechanics. When using them, to obtain reliable simulation results, an appropriate experimental or theoretical justification is required. For example, in [3], when analyzing the operation of the osteosynthesis system of the humerus, a criterion for maximum tensile or compressive stresses was adopted, corresponding to the so-called first hypothesis of strength [13]. On the other hand, as is known [15], the first hypothesis (criterion) reflects the engineering ideas of strength calculations, proposed by G. Galileo and used for simple systems until the end of the 19th century. At present, the so-called fourth (energy) hypothesis of strength has received the widest application [16]. However, its use requires, first of all, an appropriate analysis.

Therefore, the purpose of this work is to create computer aided engineering (CAE) models for analyzing the operation of implants and subsequent prediction of the results of surgical treatment of limb fractures, as well as optimization of rehabilitation activities.

The main objectives of the article:

- to show the fundamental possibility of using the relatively simple CAE models for calculating loads at different stages of rehabilitation, especially for elderly patients;
- to demonstrate the change in the distribution of stresses in the bones at different values of the parameters and to identify the most characteristic patterns;
- to carry out a comparative analysis of various criteria (hypotheses) of strength and substantiate the choice of the most adequate and universal of them;
- outline the ways for further research in this area to reduce trauma during surgery and shorten the rehabilitation period by optimizing the shape of the implants.

PROBLEM STATEMENT AND METHOD OF SOLUTION

General remarks

Research in various fields of orthopedic surgery and traumatology requires a methodology that makes it possible to reproduce (simulate) different situations [4–7]. This methodology can be used to study the biomechanics of the musculoskeletal system both in healthy people and in patients with pathological abnormalities, as well as for modeling various prostheses and implants. The main task of modeling is to predict changes in the distribution of stresses around the zones of implantation, which should prevent incorrect placement of implants and accelerate rehabilitation. An important advantage of physical and mathematical models based on FEM is also the possibility of optimizing the design of prostheses and implants to minimize problems caused by such phenomena as stress-shielding or osteopenia.

To clarify the essence of the work, first of all, we note that modern biomechanics, when solving specific problems, relies on the corresponding models - physical and mathematical. Physical models, i.e. sets of corresponding simplifications (when insignificant characteristics, for example, the color of a sample when calculating the strength) are discarded, and only the most important ones remain. Mathematical models based on physical models are, generally speaking, a set of equations and additional conditions — initial and boundary. Then the problem is solved using computational methods, algorithms based on them, and appropriate software. Such the most modern and versatile software is modern computer aided engineering (CAE) systems, which were mentioned above. They consist of two main components - the actual computing part intended for calculations and the interface for displaying data. Recently, for the input of initial data (geometry), software has been connected to process the data of diagnostic equipment (3D tomograph, ultrasound). Therefore, in accordance with the logic of research, let us first consider a mathematical model.

Basic equations and additional conditions

Within the framework of CAE systems, the FEM Finite element method is most often used for strength calculations [15–21]. This method is based on the equations of the theory of elasticity. In the simplest one-dimensional case, this is Hooke's law, which relates strain ε to stress σ by a linear relationship of the form:

$$\sigma = E \cdot \varepsilon, \quad (1)$$

where: E — coefficient of proportion, called the longitudinal modulus of elasticity (Young's modulus). We emphasize that in various literary sources devoted to the problems of mechanics, not only different systems of units are often used, but also different designations for quantities identical from a physical point of view. Therefore, in order to achieve clarity in the presentation of further material, we first give some specific definitions regarding the main quantities used. In the most general case, the body under consideration is divided into a set of elementary volumes (most often cubic) and the values of normal ($\sigma_x, \sigma_y, \sigma_z$) and tangential ($\tau_{yx}, \tau_{zy}, \tau_{zx}, \tau_{xy}, \tau_{yz}, \tau_{xz}$) stresses are written on their faces — only 9 values. However, by virtue of the law of pairing of tangential stresses, which is formulated as:

$$\tau_{yx} = \tau_{xy}, \quad \tau_{zy} = \tau_{yz}, \quad \tau_{zx} = \tau_{xz} \quad (2)$$

only six quantities are independent — $\sigma_x, \sigma_y, \sigma_z$ and $\tau_{yx}, \tau_{zy}, \tau_{zx}$. Since tension/compression along one of the axes (even in the case of a homogeneous isotropic material) changes the dimensions along the other two axes, one more parameter must be introduced to describe the properties of the material — the lateral compression ratio ν or Poisson's ratio. In addition to tensile / compressive deformations and (corresponding stresses), there are deformations and,

accordingly, shear stresses. Tangential strains and the corresponding stresses are also related by a constant G called the shear modulus or shear modulus. However, there is a relationship between the shear modulus G and Young's modulus E and Poisson's ratio ν , defined by the relationship:

$$G = \frac{E}{2 \cdot (1 + \nu)} \quad (3)$$

Thus, for a complete description of the elastic properties of homogeneous isotropic materials, two constants are sufficient — Young's modulus E and Poisson's ratio ν . Then the general relations can be written in the form:

$$\begin{aligned} \sigma_x &= \frac{E}{(1 + \nu)} \varepsilon_x + 3 \cdot \frac{\nu}{(1 + \nu)} \sigma_0; & \tau_{zy} &= \frac{E}{2 \cdot (1 + \nu)} \gamma_{zy}; \\ \sigma_y &= \frac{E}{(1 + \nu)} \varepsilon_y + 3 \cdot \frac{\nu}{(1 + \nu)} \sigma_0; & \tau_{zx} &= \frac{E}{2 \cdot (1 + \nu)} \gamma_{zx}; \\ \sigma_z &= \frac{E}{(1 + \nu)} \varepsilon_z + 3 \cdot \frac{\nu}{(1 + \nu)} \sigma_0; & \tau_{yx} &= \frac{E}{2 \cdot (1 + \nu)} \gamma_{yx}; \end{aligned} \quad (4)$$

where: σ_0 — average stress [14, 22].

A set of additional conditions must be added to the basic equations and sources (load) must be specified. Additional conditions include boundary conditions that restrict displacements on specified surfaces or lines and, in the presence of internal boundaries, boundary conditions (contact conditions). To go from the microscopic level (equations for one finite element) to the macroscopic level (the entire body or structure under consideration) it is necessary to take into account the connections at the nodes of various elements. One also needs to take the form of an approximating function to describe the distribution of the solution in the area of the element itself or on its face, edge. These operations within the framework of modern CAE systems are performed in a semi-automatic mode or by software using an appropriate program — a grid generator [23]. As a result, from a mathematical point of view, the problem is reduced to the formation of a system of linear algebraic equations (SLAE) and its solution. The number of equations is equal to the number of unknowns and is determined by the number of elements. In a compact operator form, the resulting SLAE can be written as follows:

$$\hat{A}X = B, \quad (5)$$

where: \hat{A} — matrix operator (square matrix of known coefficients), B column vector of the right-hand sides (with known elements, usually corresponding to sources/load), X — vector column of unknown (to be determined) coefficients. After solving the SLAE, using certain numerical values of the coefficients, displacements and other required quantities are found: normal and tangential stresses on specified surfaces or lines, relative deformations and other quantities. If necessary, the received data is displayed in graphical mode using the program interface. The results of SSS calculations obtained in this way are the initial data for subsequent processing and interpretation within the framework of the main theoretical problem posed — to demonstrate the change in the stress distribution in the bones at different values of the parameters and to identify the most characteristic patterns. To solve practical problems related to the optimization of operational and rehabilitation measures, it is necessary to make a reasonable choice of criteria.

Strength criteria (hypotheses) [14, 15].

The point of introducing strength hypotheses is that they eliminate the need for a huge number of experiments [14, 15]. One or another criterion of equivalence serves as the basis for

practical strength calculations only under the condition that for a number of special cases the results of its experimental verification turned out to be sufficiently close to theoretical calculations or numerical simulation [26]. The reasons for the destruction of materials are complex physical processes, both at the macroscopic and microscopic levels. This does not allow until now to develop a universal and simple hypothesis of strength and therefore there are used several basic hypotheses. It is important that all of them are based on the concept of a dimensionless (having no physical dimension) safety factor k as a ratio of the actual value of a certain parameter, for example, tensile stress, which we will supply with the index (1) to emphasize its relation to the first hypothesis — $\sigma_s^{(1)}$ to the maximum possible value of the same parameter $\sigma_{s,\text{lim}}$. The limit value $\sigma_{s,\text{lim}}$ must be preset.

To make an informed decision on the choice of the strength hypothesis, it is necessary to carry out a physical analysis of their features. The first hypothesis of strength, proposed by Galileo, which was already mentioned above, is based on the assumption that the cause of material failure is the highest normal stresses in absolute value. The condition for the strength of the material (structure) in this case is the requirement that the safety factor be less than one:

$$k = \frac{\sigma_s^{(1)}}{\sigma_{s,\text{lim}}} < 1. \quad (6)$$

The main disadvantage of this hypothesis is that the determination of the equivalent stress does not take into account the other two principal stresses. For example, under all-round compression, the material can withstand significantly higher stresses than under uniaxial compression.

The second hypothesis of strength or the hypothesis of the greatest linear deformations proposed by Mariotte and then developed by Saint-Venant proceeds from the assumption that the greatest linear deformations are the cause of failure. Within the framework of this approach, the equivalent stresses are first calculated by the formula:

$$\sigma_{eq}^{(2)} = \sigma_1 - \nu \cdot (\sigma_2 + \sigma_3) \leq |\sigma_{\text{lim}}|, \quad (7)$$

where: $\sigma_1, \sigma_2, \sigma_3, \sigma_{\text{lim}}$ — three main and maximum permissible stress, respectively. Or, which is equivalent (taking into account the above notation):

$$\varepsilon_1 = \frac{1}{E} \cdot (\sigma_1 - \nu \cdot (\sigma_2 + \sigma_3)) \leq |\varepsilon_{\text{lim}}|. \quad (8)$$

The second hypothesis, as follows from (8), takes into account all three main stresses. Nevertheless, it is not sufficiently confirmed by experience and is rarely used.

The third hypothesis, or the hypothesis of the greatest shear stresses, was proposed by Coulomb and developed by Saint-Venant. In accordance with this hypothesis, the greatest shear stresses are the cause of material failure. The third strength hypothesis is based on the condition:

$$\sigma_{eq}^{(3)} = \sigma_1 - \sigma_3 \leq |\sigma_{\text{lim}}|. \quad (9)$$

The main disadvantage of the third hypothesis is that it does not take into account the second principal stress and gives an acceptable accuracy (10–15%) only for plastic materials.

The fourth hypothesis of strength or energy is based on the amount of specific potential energy spent on changing the shape before the onset of the limiting state. In the most general case, the total specific potential energy of deformation of a unit cube can be represented as the sum of the energy spent on changing the volume (tension / compression) and changing its shape. In this case, the corresponding limiting state condition looks like this:

$$\sigma_{eq}^{(4)} = \sqrt{\frac{1}{2} \left[(\sigma_1 - \sigma_2)^2 + (\sigma_2 - \sigma_3)^2 + (\sigma_3 - \sigma_1)^2 \right]} \leq |\sigma_{\text{lim}}| \quad (10)$$

It goes without saying that for each material it is necessary to preliminarily determine the numerical value of the stress limit — σ_{lim} . However, the main applied advantage of this hypothesis is the possibility of its application for the tasks of comparative analysis of various structures and modes of their operation on the basis of an energy assessment in the absence of accurate data on the values of limiting stresses or strains. This is due to the fact that it is the potential energy in static problems that is the source of destruction of a material or structure. Therefore, as a criterion for assessing the stress-strain state of the implant — bone structure, we will choose the fourth hypothesis of strength and the quantitative criterion of the stress value according to von Mises (10).

RESULTS AND DISCUSSION

To illustrate the proposed approach, let us consider an example of treatment of a comminuted fracture of the humerus in an elderly patient, which occurred on December 31, 2013 as a result of a fall (Fig. 1, a). An attempt to use an orthosis for setting the fragments and fixing them for 7 weeks did not give any result (Fig. 1, b).

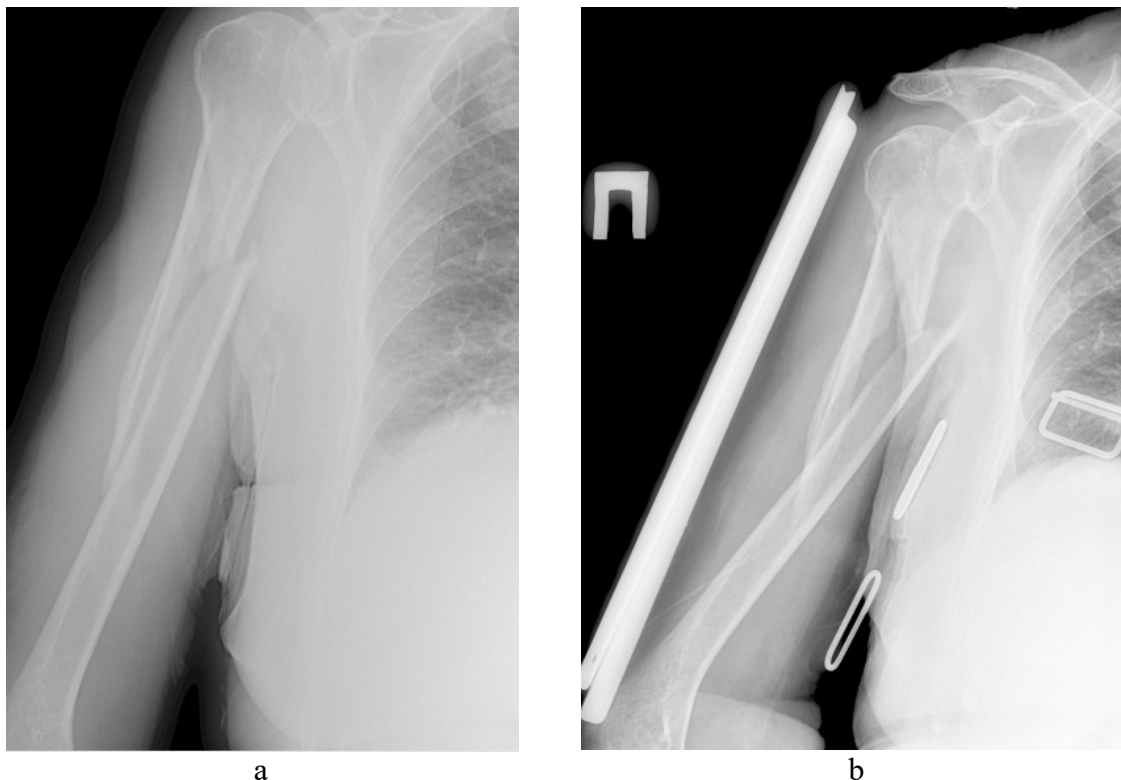


Fig. 1. X-Ray picture of the right humerus.

As a result, a decision was made on the need for surgical treatment, open reduction of fragments and extramedullary osteosynthesis of the right humerus, which was carried out on 06.03.2014 (Fig. 2, a).

CAE model and parameter selection

When carrying out calculations, we used the ANSYS Mechanical Software Suite. As mentioned above, the concept of a CAE model implies a set of geometric elements together with a set of physical and mechanical properties of materials and connections (contact conditions) between individual elements. At the subsequent stages, a mesh of nodes (vertices) of elements is formed, and displacements, deformations and stresses are calculated. In this case, the modeling task is to analyze the distribution of stresses in order, on the one hand, to ensure

reliable bone fusion at the fracture site, and on the other hand, to optimize the further load on the bone in order to reduce the immobilization time as much as possible and, as a consequence, prevent a decrease in bone mineral density (BMD) tissue (osteopenia). In the case of intramedullary osteosynthesis, posttraumatic osteopenia of tubular bones was studied in [17]. However, extramedullary osteosynthesis (external fixation) differs from intramedullary both in the duration of immobilization and in the distribution of loads due to the asymmetry of the structure. When carrying out calculations, it is natural to strive to use the most adequate model. However, the approximation of a model to reality often leads to its complication and, in many cases, even to a loss of accuracy due to the accumulation of round-off errors when performing arithmetic operations on a computer. Therefore, a relatively simple model from the point of view of geometry was created for modeling (Fig. 2, b, c).

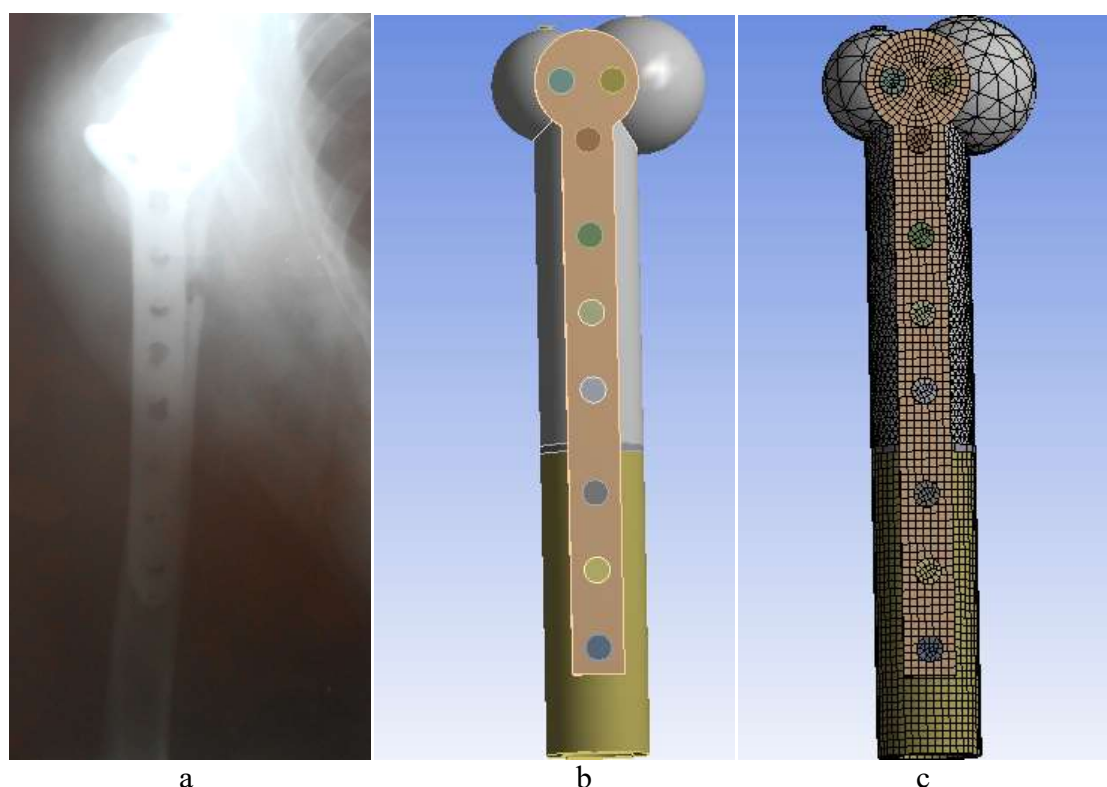


Fig. 2. X-ray picture of the right humerus after surgery (a), diagrams of the bone with an implant (b, c).

The next task is to assign numeric values to parameters. To describe the physical and mechanical properties of bone tissue, standard data on the main characteristics of tissues and materials of implants - elastic modulus (Young's modulus) — E and Poisson's ratio — ν are used. Papers [24, 25] are devoted to the determination of these parameters and the analysis of the results obtained. Naturally, the values of these parameters can vary depending on many factors — age, energy intensity of the injury, individual characteristics, diet, etc. Therefore, Table 1 presents not the exact values of the parameters, but their averaged values according to [16, 18–20, 24, 25] or the boundaries of the change in characteristics.

The values from Table 1 were used as a basis for modeling bone stress with an implant. To carry out numerical calculations, it is necessary to specify the boundary conditions and the load. In this case, the boundary conditions (fixation) were set in the lower section (by area), and the load (compressive 0.6 MPa is standard for some technical applications, on two circular sections with a diameter of 0.6 cm. each. It is equivalent to a force of 3.4 kg) is applied to the articular head (caput humeri) and to the larger apophysis (tuberculum majus). The main goal of

computational experiments is to simulate the distribution of loads during rehabilitation at various values of the parameters (first of all, Young's modulus). Some calculation results are shown in Fig. 3–6.

Table 1. The values of the parameters used according to the data from [16, 18–20, 24, 25].

Tissue (material)	E (MPa)	Load direction	ν	Tensile strength (MPa)	Compressive strength (MPa)
Brachial bone	17200	longitudinal	0.30	30	132
Spoke-bone (radius)	18600	longitudinal	0.30	149	114
Elbow bone	18000	longitudinal	0.30	148	117
Spongy bone	90–959	longitudinal	0.12	–	23
Bone marrow	1	–	0.30		
Hip	17200	longitudinal	0.30	121	167
Tibia	18100	longitudinal	0.30	140	159
Fibula	18600	longitudinal	0.30	146	129
Cervical vertebrae	230	longitudinal	н.д.	3.1	10
Lumbar vertebrae	160	longitudinal	н.д.	3.7	5
Cortical layer	20000	longitudinal	0.30	90	150
Forged titanium alloy (Ti 6Al-4V)	110000	–	0.33	–	–
Alloy TMZF	74000–85000	–	0.33	–	–

When installing implants, it becomes necessary to calculate the permissible loads at different stages of rehabilitation. As can be seen from the above figures, at the early stage of rehabilitation (Fig. 3, a.)

The entire load (bright zone) is taken by the implant. as the bone fragments grow together, the load begins to be distributed more and more evenly (fig. 3, b) and at the end the stress distribution becomes almost completely uniform (fig. 3, c). Thus, (fig. 3, c) clearly demonstrates the achievement of one of the goals — minimization of maximum stresses and their almost uniform distribution throughout the structure. Concrete values of stresses should be used to determine the maximum permissible loads at each stage of rehabilitation. The illustrations of the simulation results when solving this problem are shown in fig. 4–6. Fig. 4 illustrates the dependence of the first principal stress (maximum compressive or tensile) for the entire structure and separately for bone tissue, depending on young's modulus at the fracture site, i.e. in fact, it illustrates the process of rehabilitation under various conditions (BMD values, qualitative changes in collagen and the associated young's modulus) of the entire bone. Analysis of these graphs shows that an increase in the strength (young's modulus) of bone tissue leads to a more even distribution of the load and a decrease in maximum stress. In addition, the implant takes on a significant part of the load at the initial stages of rehabilitation, and the load on the bone itself is correspondingly reduced. As the bone grows together, simultaneously with a decrease in stresses, the difference between the stress on the entire structure and the stress on the bone decreases. this indicates that the bone begins to take on an increasingly significant relative part of the load, which should positively affect its BMD (reducing the risk of osteopenia).

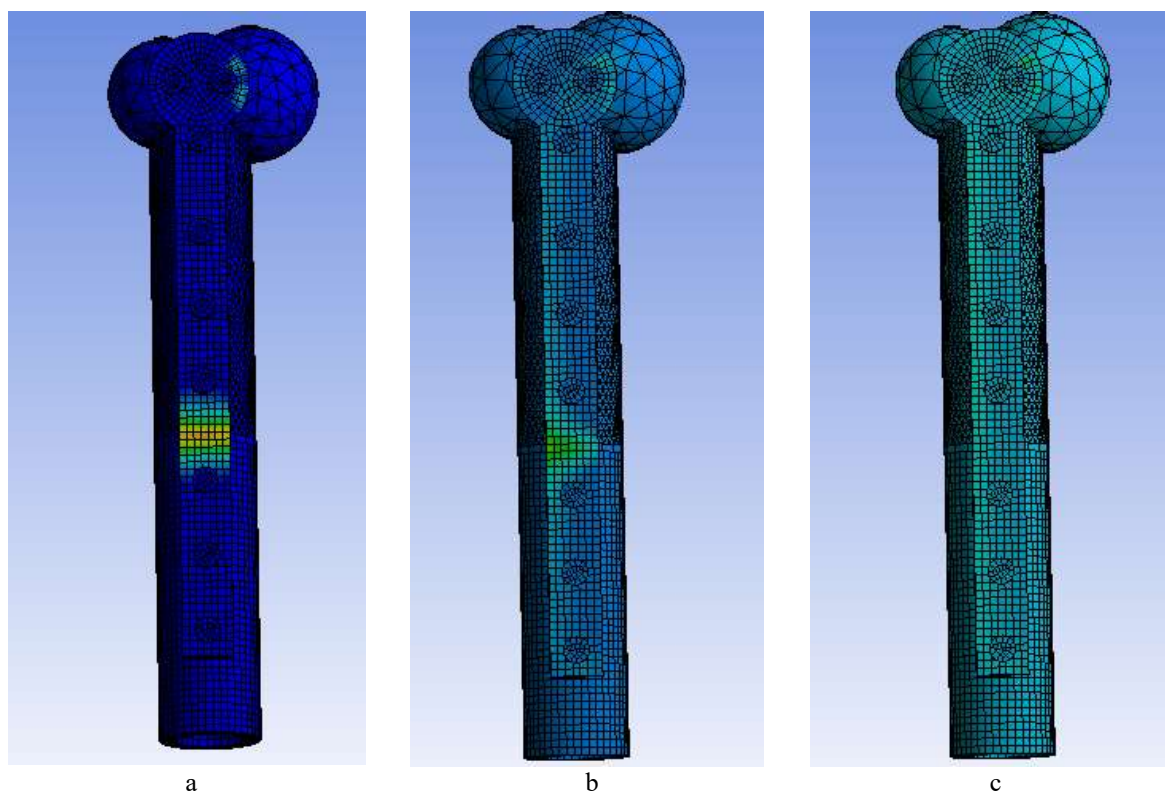


Fig. 3. Distribution of stresses (von Mises) at different values of young's modulus in the fracture area: a) bone 0.1 MPa max 19.5 MPa, b) bone 50 MPa max 1.48 MPa, c) 3000 MPa max 0.89 MPa.

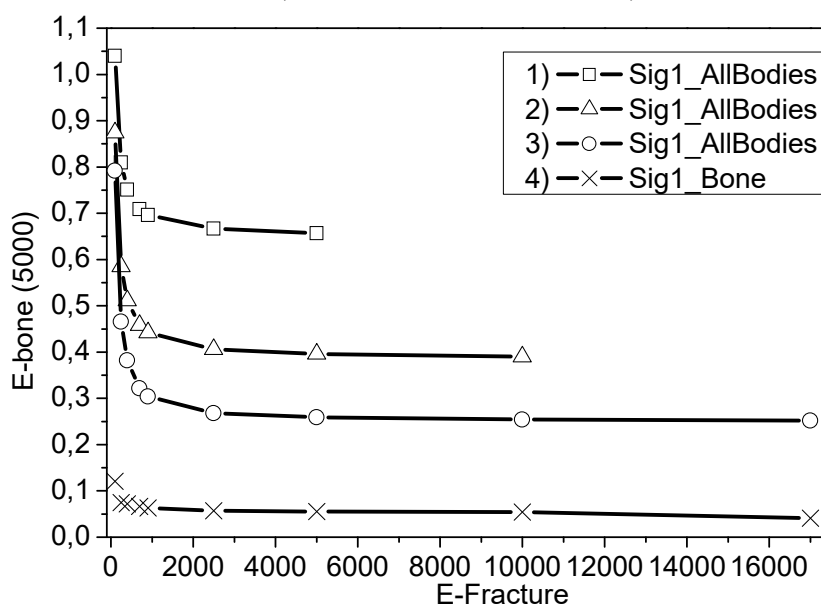


Fig. 4. Maximum values of the first principal stress for the entire structure (1–3) at different values of the Young's modulus of bone tissue and for bone tissue at the maximum value of E, depending on the Young's modulus of bone tissue at the fracture site.

Fig. 5–6 shows the maximum von Mises stresses (1), the maximum values of the first principal stress for the entire structure (2) and the same stress, but only for the bone (3), depending on the strength of the tissue at the fracture site (Young's modulus) at different BMD (values of Young's modulus) of the entire bone. The results obtained confirm the correctness of the choice of the criterion — von Mises stresses, since it is these stresses that have the maximum values. Also important is the result of significantly lower stresses in the bone compared to the

maximum stresses in the entire structure. Moreover, the difference between these values is smaller for large values of strength (Young's modulus) of the bone itself. In other words, for a bone with a higher BMD (Young's modulus), a more uniform distribution of stresses occurs. From a physical point of view, this is quite natural.

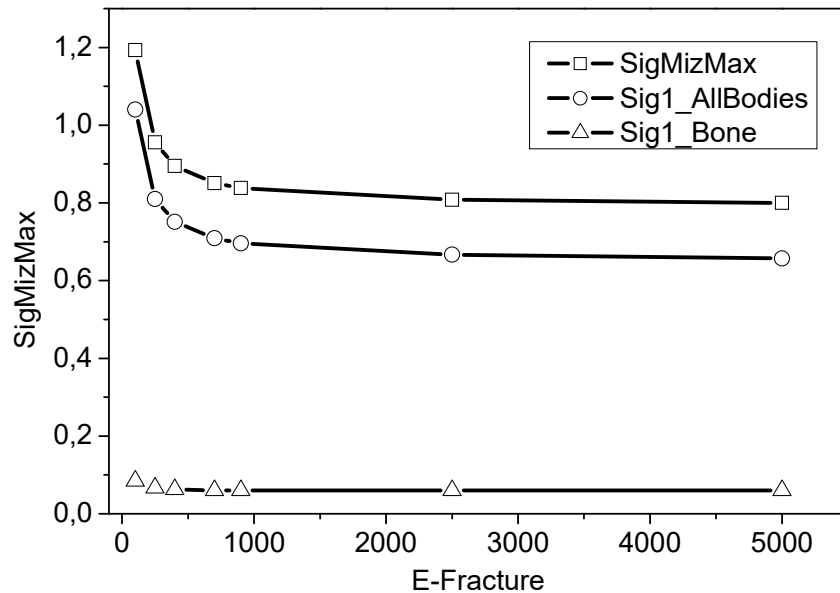


Fig. 5. Maximum values of von Mises stresses (1), the first principal stress for the entire structure (2) and the first principal stress only for the bone (3), depending on the Young's modulus of the fracture site. Young's modulus of the bone is 5000 MPa.

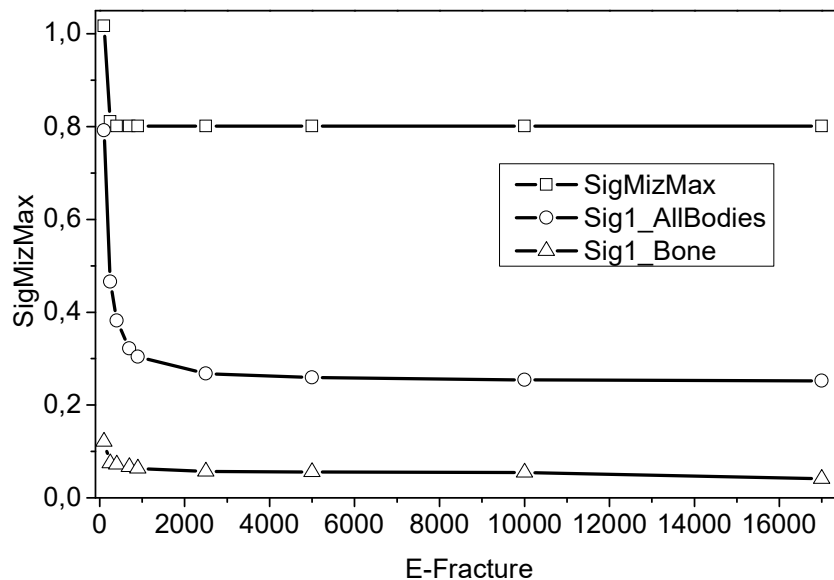


Fig. 6. Maximum values of von Mises stresses (1), the first principal stress for the entire structure (2) and the first principal stress only for the bone (3), depending on Young's modulus of the fracture site. Young's modulus of the bone is 17000 MPa.

Finally, we note that the calculations performed showed a significant increase in the safety factor after implant placement for all values of the Young's modulus of the bone after rehabilitation. In the initial stages, this is achieved due to the fact that the implant takes on the main load (Fig. 3, a), and then more and more even distribution of the load occurs, which ultimately significantly reduces the risk of recurrent fractures. In conclusion, we note that in this work only relatively simple

ones are considered, both from the point of view of geometry and from the point of view of physico-mechanical characteristics of materials (homogeneous isotropic materials). The authors hope to present the results of the analysis of more complex structures and a comparative analysis of various technologies for installing implants in future works.

CONCLUSION

The models developed by CAE for studying the stress-strain state of the elements of the musculoskeletal system using the example of the humerus with an implant have shown their efficiency and effectiveness.

The key advantage of FEM modeling is the ability to perform multiple non-invasive modeling of the patient's musculoskeletal system with various variants of prostheses (implants) and the choice of the most optimal one. This primarily relates to the problems of optimal planning of bone surgeries associated with the placement of implants.

It has been established that the use of an implant — bone stress according to Mises as a criterion for assessing the stress-strain state of the structure makes it possible to obtain, from the point of view of mechanics, effective assessments of the reliability of the work, both of the entire structure and of its elements separately.

As a result of computational experiments carried out using the developed models, the features of the operation of structures with various mechanical properties have been investigated. As a result, the possibility of effective planning of rehabilitation measures was established, both taking into account the general strength characteristics of artificial materials, and taking into account the individual characteristics of a particular patient.

As directions for further research, further improvement (complication) of both the geometric parameters of the models and the physical and mechanical characteristics of materials is proposed.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

Author's ORCID ID

Dmitry O. Batrakov  <http://orcid.org/0000-0002-6726-8162>

REFERENCES

1. Soares CJ, Versluis A, Valdivia ADCM, Bicalho AA, Veríssimo C, Barreto BCF, Roscoe MG. Finite Element Analysis in Dentistry — Improving the Quality of Oral Health Care. In: Moratal D, editor. Finite Element Analysis — From Biomedical Applications to Industrial Developments. IntechOpen; 2012. p. 25–56. <https://doi.org/10.5772/37353>
2. Mansyrov AB, Lytovchenko VO, Gariachyi YeV. Complications of Intramedullary Blocking Osteosynthesis of Bones of Limbs and Ways to Prevent Them. *Visnyk Ortopedii Travmatologii Protezuvannia*. 2020;105(2):35–42. <https://doi.org/10.37647/0132-2486-2020-105-2-35-42>
3. Kozopas VS. Treatment of multi-fragment diaphyseal bone fractures by blocking intramedullary osteosynthesis technique (analysis of errors and complications). *Novosti Khirurgii*. 2019;27(2):1–8. <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2019.2.204>
4. Korzh MO, Makarov VB, Lipovsky VI, Morozenko DV, Danylchenko SI. Mathematical modeling of the stress-strain state of the “bone-implant” system during the osteosynthesis with a philos with polylactic acid implants. *Wiadomości Lekarskie*. 2020;73(4):722–7. <https://doi.org/10.36740/WLek202004118>
5. Gracia L, Ibarz E, Cegoñino J, Lobo-Escolar A, Gabarre S, Puértolas S, López E, Mateo J, Herrera A. Simulation by Finite Elements of Bone Remodelling After Implantation of Femoral Stems. In: Moratal D, editor. Finite Element Analysis — From Biomedical Applications to Industrial Developments. IntechOpen; 2012. p. 217–50. <https://doi.org/10.5772/38546>
6. Zysset PK, Dall'ara E, Varga P, Pahr DH. Finite element analysis for prediction of bone strength. *Bonekey Rep*. 2013;2:386. <https://doi.org/10.1038/bonekey.2013.120>
7. Basafa E, Armiger RS, Kutzer MD, Belkoff SM, Mears SC, Armand M. Patient-specific finite element

- modeling for femoral bone augmentation. *Med Eng Phys.* 2013;35(6):860–5. <http://doi.org/10.1016/j.medengphy.2013.01.003>
8. Meng L, Zhang Y, Lu Y. Three-dimensional finite element analysis of mini-external fixation and Kirschner wire internal fixation in Bennett fracture treatment *Orthop Traumatol-Surg.* 2013;99(1):21–9. <http://doi.org/10.1016/j.otsr.2012.07.015>
 9. Robson BK, Tarsuslugil S, Wijayathunga VN, Wilcox RK. Comparative finite-element analysis: a single computational modelling method can estimate the mechanical properties of porcine and human vertebrae. *J R Soc Interface.* 2014;11(95):20140186. <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.0186>
 10. Munckhof S, Zadpoor AA. How accurately can we predict the fracture load of the proximal femur using finite element models. *Clin Biomech.* 2014;29(4):373–80. <http://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2013.12.018>
 11. Parashar SK, Sharma JK. A review on application of finite element modelling in bone biomechanics. *Perspect Sci.* 2016;8:696–8. <http://doi.org/10.1016/j.pisc.2016.06.062>
 12. McGregor BA, Murphy KM, Albano DL, Ceballos RM. Stress, cortisol, and B lymphocytes: a novel approach to understanding academic stress and immune function. *Stress.* 2016;19(2):185–91. <https://doi.org/10.3109/10253890.2015.1127913>
 13. Huijie L, Reyes MJ, Dong NX, Wang X. Effect of age on mechanical properties of the collagen phase in different orientations of human cortical bone. *Bone.* 2013;55(2):288–91. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.04.006>
 14. Budynas RG, Nisbett JK. Shigley's mechanical engineering design. 10th ed. New York: Mcgraw-Hill Education; 2015. 1105 p. ISBN-13: 978-0-07-339820-4.
 15. Bower AF. Applied Mechanics of Solids. New Delhi: CRC Press; 2009. 824 p. ISBN 9781439802472.
 16. Hart NH, Nimphius S, Rantalainen T, Ireland A, Siafarikas A, Newton RU. Mechanical basis of bone strength: influence of bone material, bone structure and muscle action. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2017;17(3):114–39. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5601257/>
 17. Trevisan C, Ortolani S. Immobilization and Post-traumatic Osteopenia. In: Obrant K, editor. *Management of Fractures in Severely Osteoporotic Bone.* London: Springer; 2000. p. 525–41. https://doi.org/10.1007/978-1-4471-3825-9_38
 18. Evans FG. The Mechanical Properties of Bone. American Lecture Series, n. 881. Springfield, IL 1973; 881 p.
 19. Ashman RB, Cowin SC, Van Buskirk WC, Rice JC. A continuous wave technique for the measurement of the elastic properties of cortical bone. *J Biomech.* 1984;17(5):349-61. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(84\)90029-0](https://doi.org/10.1016/0021-9290(84)90029-0)
 20. Ashman RB, Rho JY. Elastic modulus of trabecular bone material. *J Biomech.* 1988;21(3):177–81. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(88\)90167-4](https://doi.org/10.1016/0021-9290(88)90167-4)
 21. Turner AWL, Gillies RM, Sekel R, Morris P, Bruce W, Walsh WR. Computational bone remodeling simulations and comparisons with DEXA results. *J Orthop Res.* 2005;23(4):705-12. <https://doi.org/10.1016/j.orthres.2005.02.002>
 22. Jourdain R, Wilson SA. Thermally induced stresses in an adhesively bonded multilayer structure with 30-micron thick film piezoelectric ceramic and metal components. In: Menz W, Dimov S, Fillon B, editors. *4M 2006 – Second International Conference on Multi-Material Micro Manufacture.* Elsevier; 2006. p. 259–62. <https://doi.org/10.1016/B978-008045263-0/50058-1>
 23. Patil AY, Banapurmath NR, Kotturshettar BB, Lekha K, Roseline M. Limpet teeth-based polymer nanocomposite: a novel alternative biomaterial for denture. In: Han B, Sharma S, Nguyen TA, Longbiao L, Bhat KS, editors. *Micro and Nano Technologies. Fiber-Reinforced Nanocomposites: Fundamentals and Applications.* Elsevier; 2020. p. 477–523. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819904-6.00022-0>
 24. Hunt KD, O'Loughlin VD, Fitting DW, Adler L. Ultrasonic determination of the elastic modulus of human cortical bone. *Med Biol Eng Comput.* 1998;36:51–6. <https://doi.org/10.1007/BF02522857>
 25. Lin L, Tong A, Zhang H, Hu Q, Fang M. The Mechanical Properties of Bone Tissue Engineering Scaffold Fabricating Via Selective Laser Sintering. In: Li K, Li X, Irwin GW, He G, editors. *Life System Modeling and Simulation. LSMS 2007. Lecture Notes in Computer Science, vol. 4689.* Springer, Berlin, Heidelberg; 2007. p 146–52. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74771-0_17
 26. Badur J, Bryk M, Ziolkowski P, Slawinski D, Ziolkowski P, Kornet S, Stajnke M. On a Comparison of Huber-Mises-Hencky with BurzynskiPecherski Equivalent Stresses for Glass Body During Nonstationary Thermal Load. *AIP Conf Proceedings.* 2017;1822(1):1–9. <https://doi.org/10.1063/1.4977676>

Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-02>

УДК 577.342+616.71

СЕГМЕНТАЦІЯ ДЕНТАЛЬНОЇ РЕНТГЕНОГРАМИ ПРИ ЕНДОДОНТИЧНОМУ ЛІКУВАННІ

О. М. Перепелиця

Харківський національний університет радіоелектроніки, просп. Науки, 14, м. Харків, 61166, Україна

e-mail: oleksii.perepelytsia@nure.ua

Надійшла до редакції 24 лютого 2021 р. Переглянута 12 квітня 2021 р.

Прийнята до друку 11 травня 2021 р.

Актуальність. Основою успішного ендодонтичного лікування є правильне визначення робочої довжини кореневого каналу (відстань між зовнішнім орієнтиром на коронці зуба до апікального кордону). Як кордон для обробки і пломбування кореневого каналу рекомендована зона апікальної констрикції (звуження). Внутрішньоротова рентгенограма дозволяє отримати інформацію про напрям вигинів корневих каналів, а також визначити робочу довжину. Проте рентгенограма є двовимірним сумарним зображенням і не відтворює всю анатомію апікальної частини кореня, тому часто відзначаються нашарування і спотворення зображення. При інтерпретації рентгенограм існує ймовірність помилки, пов'язаної з суб'єктивністю оцінювального результату спеціаліста. Таким чином, керуватися виключно цим методом визначення робочої довжини недоцільно. Метод апекслокації заснований на різниці електричного опору тканин. Тверді тканини зуба мають більш високий опір ніж слизова оболонка порожнини рота і тканини періодонта. Пристрої для електрометричного визначення робочої довжини кореневого каналу визначають імпеданс за допомогою змінних струмів різної частоти та застосовують метод співвідношення. Цей вимір є стабільним і має високу точність навіть при роботі у вологих каналах та забезпечує плавну візуалізацію всього процесу проникнення верхівки каналного інструмента і високу точність визначення місця фізіологічної верхівки кореня (понад 80 %). Сучасні алгоритми для електрометричного визначення робочої довжини кореневого каналу не поєднують дані, що отримуються з рентгенограми. У зв'язку з цим актуальним є розробка нових методів та засобів відображення електрометричних даних на рентгенограмі для більш достовірного визначення місця фізіологічної верхівки кореня.

Мета роботи — розробка методу сегментації дентальної рентгенограми для визначення зони апікальної констрикції.

Матеріали й методи: принципи ендодонтичного препарування зубів; методи визначення робочої довжини кореневого каналу (рентгенологічний, електрометричний); метод порогової сегментації; метод сегментації кісткових структур на томографічних зображеннях.

Результати. В результаті виконаної роботи були сегментовані структури корневих каналів зуба та визначена їх довжина. Порівняння електронного визначення робочої довжини з радіологічним показало, що в деяких випадках рентгенівська і електронна довжина не збігаються. При латеральному викривленні каналу рентгенівський знімок може показати коротшу робочу довжину, ніж прилади для апекслокації, тому електронна робоча довжина, зазвичай точніша, ніж довжина, визначена рентгенівським способом.

Висновки. Перевагою вимірювання довжини кореневого каналу за допомогою апекслокатора є значно більша точність (близько 0,5 мм) в порівнянні з методом рентгенографії, однак більш достовірним може бути поєднання цих двох методів, що потребує подальших статистичних досліджень. Особливу увагу при цьому слід приділити особливостям методів обробки та сегментації отриманих діагностичних зображень для забезпечення максимальної якості візуалізації контурів корневих каналів.

© Перепелиця О. М., 2021. **Open Access.** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>

Як цитувати: Перепелиця О. М. Сегментація дентальної рентгенограми при ендодонтичному лікуванні. Біофізичний вісник. 2021;45:21–31. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-02>

Cite this article: Perepelytsia OM. Segmentation of dental x-ray in endodontic treatment. Biophysical Bulletin. 2021;45:21–31. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-02>

КЛЮЧОВІ СЛОВА: довжина кореневого каналу; апікальний кордон; рентгенограма; ендодонтичне лікування; апекслокатор.

SEGMENTATION OF DENTAL X-RAY IN ENDODONTIC TREATMENT

O. M. Perepelytsia

Kharkiv National University of Radio Electronics, 14 Nauky Ave., Kharkiv, 61166, Ukraine

Background: The basis of successful endodontic treatment is the correct determination of the working length of the root canal (the distance between the external landmark on the crown of the tooth to the apical border). An apical constriction zone is recommended as a border for root canal treatment and filling. Intraoral radiograph allows you to obtain information about the direction of bending of the root canals, as well as to determine the working length. However, the radiograph is a two-dimensional total image and does not reproduce the entire anatomy of the apical part of the root therefore there are often layers and distortions of the image. When interpreting radiographs, there is a probability of error associated with the subjectivity of the evaluation result of the specialist. Thus, it is impractical to be guided exclusively by this method of determining the working length. The method of apexlocation is based on the difference of electrical resistance of tissues. The hard tissues of the tooth have a higher resistance than the mucous membrane of the mouth and periodontal tissue. Devices for electrometric determination of the working length of the root canal determine the impedance using alternating currents of different frequencies and apply the method of ratio. This measurement is stable and accurate even when working in wet channels and provides smooth visualization of all process of penetration of a top of the channel tool and high accuracy of definition of a place of physiological top of a root (over 80%). Modern algorithms for electrometric determination of the working length of the root canal do not combine the data obtained from the radiograph. In this regard, it is important to develop new methods and means of displaying electrometric data on the radiograph to more accurately determine the location of the physiological apex of the root.

Objectives: Development of a method of segmentation of the dental radiograph to determine the area of apical narrowing.

Materials and methods: principles of endodontic tooth preparation; methods for determining the working length of the root canal (radiological, electrometric); threshold segmentation method; method of segmentation of bone structures on tomographic images.

Results: As a result of the performed work, the structures of the root canals of the tooth were segmented and their length was determined. Comparison of electronic determination of working length with radiological led to the fact that in some cases, X-ray and electronic length do not match. With lateral curvature of the canal, the X-ray may show a shorter working length than apexlocation devices, so the electronic working length is usually more accurate than the length determined by X-ray.

Conclusions: The advantage of measuring the length of the root canal with an apex locator is much greater accuracy (about 0.5 mm) compared to the method of radiography, but the combination of these two methods is more reliable, which requires further statistical studies. Particular attention should be to the peculiarities of processing and segmentation methods of the obtained diagnostic images to ensure the maximum quality of visualization of the contours of the root canals.

KEY WORDS: root canal length; apical border; radiograph; endodontic treatment; apexlocator.

СЕГМЕНТАЦИЯ ДЕНТАЛЬНОЙ РЕНТГЕНОГРАММЫ ПРИ ЭНДОДОНТИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ

А. Н. Перепелиця

Харьковский национальный университет радиоэлектроники, просп. Науки 14, г. Харьков, 61166, Украина

Актуальность. Основой успешного эндодонтического лечения является правильное определение рабочей длины корневого канала (расстояние между внешним ориентиром на коронке зуба к апикальной границе). В качестве границы для обработки и пломбирования корневого канала рекомендуется зона апикальной констрикции (сужения). Внутривитальная рентгенограмма позволяет получить информацию о направлении изгибов корневых каналов, а также определить рабочую длину. Однако рентгенограмма является двумерным суммарным изображением и не воспроизводит всю анатомию апикальной части корня, поэтому часто отмечаются наложения и искажения изображения. При интерпретации рентгенограмм существует вероятность ошибки, связанной с субъективностью оценочного результата специалиста. Таким образом, руководствоваться исключительно этим методом определения рабочей длины нецелесообразно. Метод апекслокации основан на разнице сопротивления тканей. Твердые ткани зуба имеют более высокое сопротивление чем слизистая оболочка полости рта и ткани периодонта. Устройства для электрометрического определения рабочей длины корневого канала определяют импеданс с помощью переменных токов различной частоты и применяют метод соотношения. Это измерение является стабильным и высокоточным даже при работе во влажных каналах и обеспечивает плавную визуализацию всего процесса проникновения вершины канального инструмента и высокую точность определения

фізіологічної верхушки корня (більше 80 %). Сучасні алгоритми для електрометричного визначення робочої довжини кореневого каналу не об'єднують дані, отримані з рентгенограмми. В зв'язі з цим актуальним є розробка нових методів і засобів відображення електрометричних даних на рентгенограмі для більш достовірного визначення фізіологічної верхушки корня.

Цель работы — розробка методу сегментації дентальної рентгенограми для визначення зони апікальної констрикції.

Материали и методы: принципи ендодонтчного препарирования зубів; методи визначення робочої довжини кореневого каналу (рентгенологічний, електрометричний) метод порогової сегментації; метод сегментації костних структур на томографічних зображеннях.

Результаты. В результаті проделаної роботи були сегментовані структури корневих каналів зуба і визначена їх довжина. Порівняння електронного визначення робочої довжини з радіологічним показало, що в деяких випадках рентгеновська і електронна довжина не збігаються. При латеральному викривленні каналу рентгеновський знімок може показати більш коротку робочу довжину, ніж прилади для апекслокації, тому електронна робоча довжина, як правило, точніше, ніж довжина, визначена рентгеновським способом.

Выводы. Перевагою вимірювання довжини кореневого каналу з допомогою апекслокатора є значно більша точність (близько 0,5 мм) порівняно з методом рентгенографії, однак більш достовірним може бути поєднання цих двох методів, що вимагає подальших статистичних досліджень. Особливу увагу при цьому слід приділити особливостям методів обробки і сегментації отриманих діагностичних зображень для забезпечення максимального якості візуалізації контурів корневих каналів.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: довжина кореневого каналу; апікальна границя; рентгенограма; ендодонтчне лікування, апекслокатор.

У структурі апекса виділяють 3 зони: власне апекс (рентгенологічна верхівка корня), великий апікальний отвір і апікальна констрикція (область апікальної частини кореневого каналу з найменшим діаметром). Як межа для обробки і пломбування кореневого каналу рекомендована зона апікальної констрикції (звуження) [1, 2]. Метод апекслокації заснований на різниці електричного опору тканин. Тверді тканини зуба мають більш високий опір ніж слизова оболонка порожнини рота і тканини періодонта. Електричний ланцюг між електродами, розміщеними на губі (губний електрод) і в каналі (електрод у вигляді файлу з градувальними стоппером), залишається замкнутим до моменту досягнення файлом тканин періодонта. В області апікального звуження відбувається різке падіння опору, ланцюг замикається, що і фіксує апекслокатор [3].

Визначення робочої довжини кореневого каналу — перший і основний етап ендодонтчного лікування. Перед початком ендодонтчного втручання визначають математичну довжину кореневого каналу. Для цього використовують табличний спосіб. Знання діапазону коливань довжини зубів є важливим фактором успішного проходження корневих каналів і подальших точних вимірювань.

Робоча довжина — це відстань від найбільш виступаючої частини коронки зуба до фізіологічного звуження — апікальної констрикції (рис. 1).



Рис. 1. Візуалізація робочої довжини кореневого каналу [3].

Fig. 1. Visualization of the working length of the root canal [3].

Апікальна констрикція найчастіше має складну конфігурацію і ускладнює визначення істинної робочої довжини.

На відстані 1,0 мм від анатомічної верхівки знаходиться фізіологічна верхівка остаточної робочої довжини зуба (рис. 2).

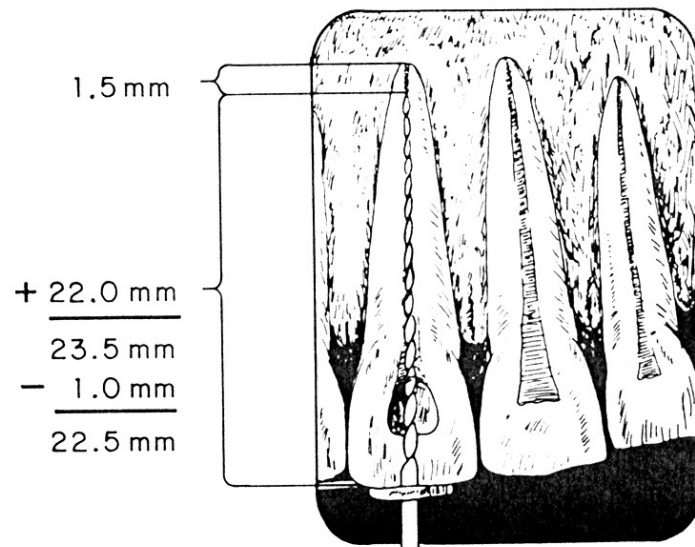


Рис. 2. Розрахунок робочої довжини кореневого каналу [2].

Fig. 2. Calculation of the working length of the root canal [2].

При лікуванні пульпіту стінки кореневого каналу не інфіковані, тому для запобігання надмірного розширення апікальної констрикції і травмування періапикальних тканин препарування проводиться на 1 мм до апікального звуження. При лікуванні періодонтитів в разі повторного ендодонтичного лікування вважається, що вся система каналів інфікована. У таких випадках, підготовка каналу повинна йти якомога ближче (0,5 мм) до апікального звуження.

Пристрої для електрометричного визначення робочої довжини кореневого каналу визначають імпеданс за допомогою змінних струмів різної частоти. Застосовуючи метод співвідношення вони дозволяють знаходити загальний коефіцієнт опору, що відображає положення файлу в каналі (рис. 3). Схема виміру показана на рис. 4.

Цей вимір вказує на присутність електролітів у пульпарній тканині, є стабільним і забезпечує високу точність вимірювання [5]. Істотним недоліком методу є вимога до роботи у відносно сухих або частково підсушених каналах.

В процесі бібліографічного аналізу було виявлено наступний аспект: багато уваги в сегментації стоматологічних рентгенівських знімків приділяється сегментації на основі порогових значень. Майже у 80% проаналізованих статей використовувався саме цей метод [6], що зумовлено високою точністю і повторюваністю результатів при різних умовах. Але досліджень довжини кореневого каналу імпедансним (або електрометричним) методом, спрямованих на ендодонтичне лікування, не велося.

Мета роботи — розробка методу сегментації дентальної рентгенограми для визначення зони апікальної констрикції та порівняння отриманих результатів з електрометричним та математичним методом із подальшим вдосконаленням.



Рис. 3. Показання реєстрації апексолокатора Dentsply Propex Pixi:
 а — інтерфейс користувача із розміткою індикаторів, де: 1 — індикатор положення входу файлу в канал, 2 — файл знаходиться в пре-апикальній зоні, 3 — файл знаходиться в апикальному звуженні, 4 — файл вийшов за межі апексу;
 б — структура апекса за посібником користувача Propex Pixi [4].

Fig. 3. Indications for registration of Dentsply Propex Pixi:
 a — user interface with indicator markup, where: 1 — indicator of the position of the file entry into the channel, 2 — the file is in the pre-apical zone, 3 — the file is in the apical narrowing, 4 — the file went beyond the apex; b - structure of the apex according to the user manual Propex Pixi [4].



Рис. 4. Схема локації апікального звуження електрометричним методом на прикладі апексолокатора Dentsply Propex Pixi.

Fig. 4. Diagram of the location of apical narrowing by electrometric method on the example of apexlocator Dentsply Propex Pixi.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Методика електрометричного визначення довжини кореневого каналу проводилася в два етапи. Перший етап — за допомогою апарату Propex Pixi визначалася попередня робоча довжина: загубний електрод встановлювався на тій стороні щелепи, на якій знаходився досліджуваний зуб. В якості активного електроду використовувався К-файл. Визначена апаратом Propex Pixi робоча довжина фіксувалася стоппером на К-файлі. В

процесі обробки кореневого каналу відбувається розширення його гирла, збільшення діаметра і конусності. Ці маніпуляції зменшують довжину, як наслідок вигин робочого інструмента також зменшується. Тому при першому вимірі вигнутий канал мав більшу довжину, ніж після остаточної механічної обробки. Первинна обробка каналу проводилася в області 2/3 довжини для виключення механічних травм періодонта. Другий етап — остаточна обробка кореневого каналу і вимірювання електрометричним методом. В ході описаних вище вимірів реєструвалася цифра, яка була дещо менша, ніж та, що спостерігалася на самому початку. Це значення визначалося як остаточна робоча довжина каналу.

Методика рентгенологічного визначення довжини кореневого каналу наступна. Для дентальної рентгенограми використовується монохромна фотометрична інтерпретація (яскравості пікселів зображення представлені сірою шкалою із показниками від 0 до 255, де значення яскравості 0 відповідає пікселю із чорним кольором, значення 255 — білому).

Для дослідження були взяті дані, які були отримані за допомогою візіографа Planmeca ProSensor HD, що має роздільну здатність вихідного зображення 1020×688 пікселів. Для розробки програмного забезпечення для сегментації та виміру довжини каналу було вибрано середовище Matlab 2019 Image Processing Toolbox [7].

Для виділення об'єкту дослідження (кореня зуба) був використаний пороговий метод. Пороговий метод — це метод бінарізації, заснований на поділі зображення на 2 частини, ґрунтуючись на порогових значеннях. Порогове значення (T) вибирається відповідно до задачі, що треба виконати (від 0 до 255). Всі значення яскравості, які знаходяться в області значень вище ніж T , називаються значеннями об'єктів, все що нижче — значення фону. Далі знаходиться граничний шар — крива лінія, що розділяє елементи об'єкта і фону. Уздовж цієї лінії виконується виділення сегмента, якщо він задовольняє умові фільтрації низькочастотних шумів.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 5–7 показані гістограми (графіки розподілу елементів зображення з різною яскравістю, в яких по горизонтальній осі представлена яскравість від 0 до 255, а по вертикалі — кількість пікселів з конкретним значенням яскравості відповідних їм зображень зубів. Тобто гістограма на рис. 5 б показує розподіл яскравості пікселів, що має зображення на рис. 5 а, гістограма на рис. 6 б відповідає зображенню на рис. 6 а, гістограма на рис. 7 б відповідає зображенню на рис. 7 а.

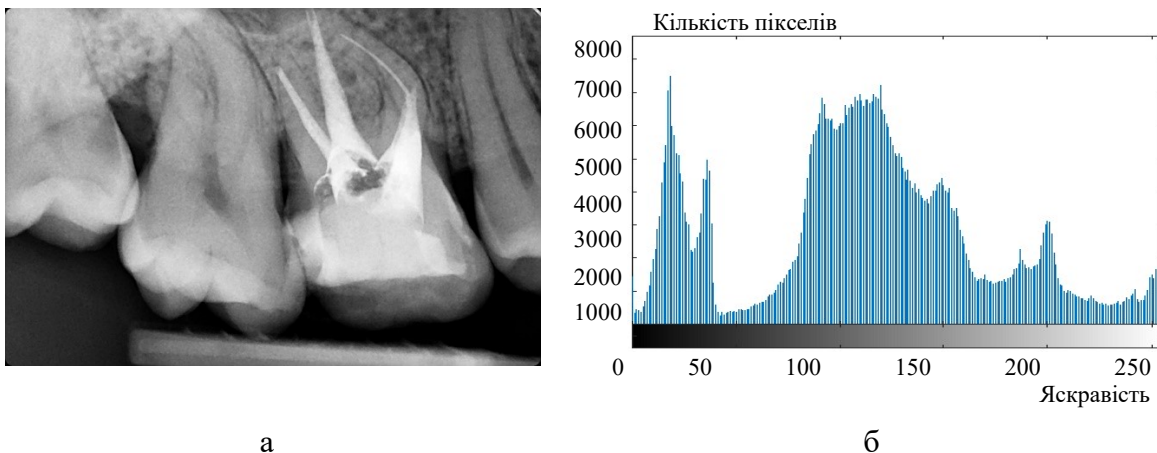


Рис. 5. Гістограмний аналіз зображення: а — зображення зуба №1, б — відповідна гістограма.

Fig. 5. Histogram analysis of the image: a — image of the tooth №1, b — the corresponding histogram.

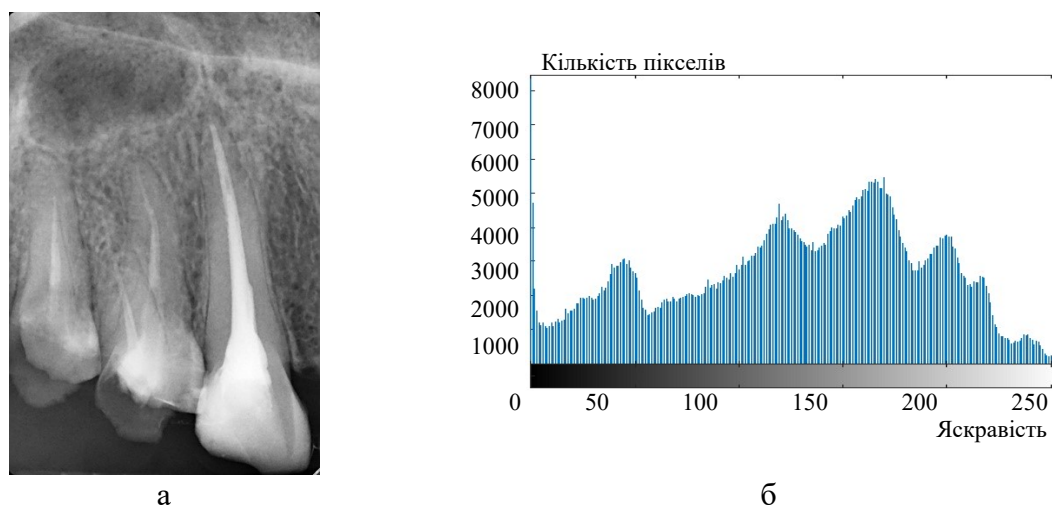


Рис. 6. Гістограмний аналіз зображення: а — зображення зуба №2, б — відповідна гістограма.

Fig. 6. Histogram analysis of the image: a — image of the tooth №2, b — the corresponding histogram.

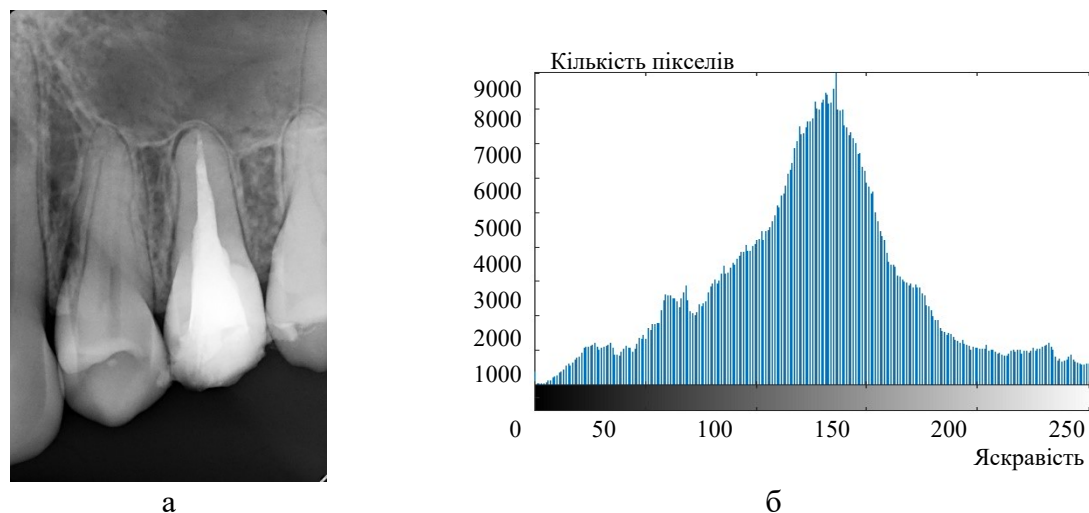


Рис. 7. Гістограмний аналіз зображення: а — зображення зуба №3, б — відповідна гістограма.

Fig. 7. Histogram analysis of the image: a — image of the tooth №3, b — the corresponding histogram.

Фізіологічному запломбованому кореневому каналу відповідають проміжки з більшими показниками яскравості. Для виділення цих областей, досить вибрати значення T і визначити всі точки, що мають $f(x,y) > T$, які належать об'єкту, а в іншому випадку — належать фону [8]. Тоді вихідне зображення (g) визначається наступним виразом:

$$g(x, y) = \begin{cases} 1, & \text{if } f(x,y) > T \\ 0, & \text{if } f(x,y) \leq T \end{cases} \quad (1)$$

де 1 — значення об'єкту;

0 — значення фону.

Для бінарізації зображення кореня зуба було вибрано поріг $T=210$. Враховуючи роздільну здатність, для виключення артефактів бінарізації була застосована фільтрація із видаленням сегментів, що мають кількість пікселів нижче 30,000 [9, 10]. Результат бінарізації наведено на рис. 8.

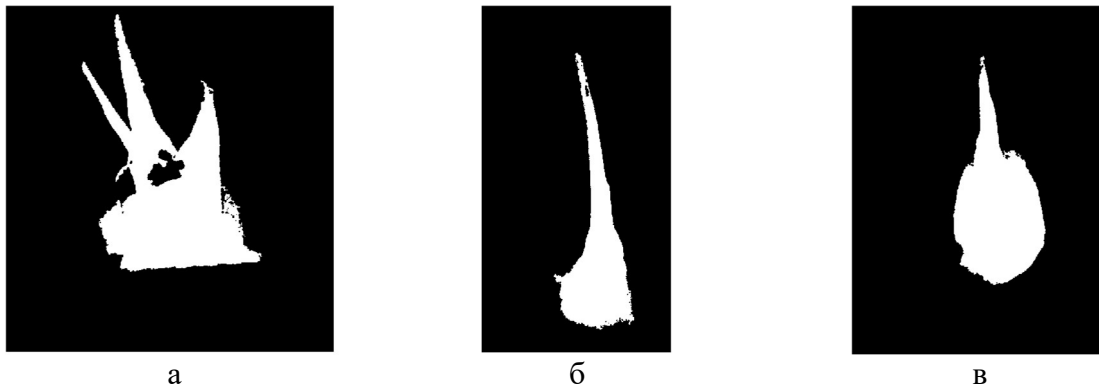


Рис. 8. Результат бінаризації зображень із порогом $T=210$: а — сегментований зуб №1, б — сегментований зуб №2, в — сегментований зуб №3.

Fig. 8. The result of binarization of images with a threshold $T = 210$: a — segmented tooth №1, b — segmented tooth №2, c — segmented tooth №3.

При пороговій сегментації необхідно додатково враховувати пов'язаність компонентів. Якщо вважати дві точки зображення пов'язаними і існує шлях між ними, уздовж якого характеристична функція постійна, то точки є пов'язаними. Розмітка об'єктів на дискретному бінарному зображенні полягає у виборі точки об'єкта, від якої власне починається зростання. На наступному кроці позначаються сусідні точки (крім вже позначених) і так далі [11]. По завершенні цієї рекурсивної процедури ми отримуємо замкнений контур (рис. 9).

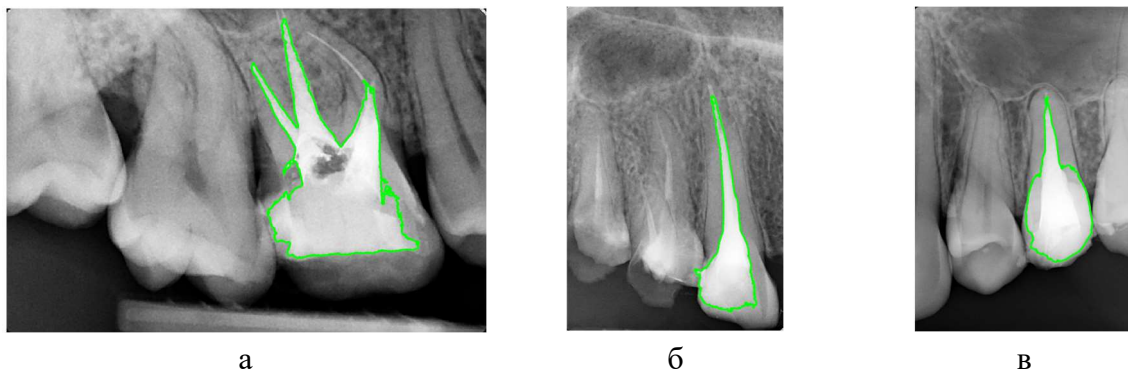


Рис. 9. Результат нанесення сегментованих контурів кореня зубів на початкове зображення: а — зуб №1, б — зуб №2, в — зуб №3.

Fig. 9. The result of drawing segmented contours of the root of the teeth on the initial image: a — tooth №1, b — tooth №2, c — tooth №3.

У таблицях для математичного визначення довжин кореневого каналу (табл. 1) наводяться значення довжин зубів і коренів, а також співвідношення розмірів коронки і кореня, кількість і частота знаходження каналів в корені, апікальних отворів, напрямок вигину каналу. Вони допомагають лікарю-стоматологу орієнтуватися в особливостях конкретного зуба, але не дають інформацію про точну конфігурацію каналів. Порівняння математичного, електронного та рентгенологічного методу визначення робочої довжини наведено у табл. 2.

Таблиця 1. Математичне визначення довжини кореневого каналу по J.I. Ingle, L.K. Bakland, J. Baumgartner [12]

Table 1. Mathematical determination of the length of the root canal according to J.I. Ingle, L.K. Buckland, J. Baumgartner [12]

Щелепа	Зуб	Довжина зуба, мм		
		Мінімальна	Середня	Максимальна
Верхня	1	21,0	23,3	25,6
	2	20,5	22,8	25,1
	3	23,1	26,0	28,8
	4	18,8	21,8	23,8
	5	19,0	21,0	23,0
	6 піднебінний	17,6	20,6	22,5
	6 дистально-щічні	17,6	19,4	21,2
	6 медіально-щічні	18,2	19,9	21,6
	7 піднебінний	19,0	20,8	22,6
	7 дистально-щічні	17,5	19,4	21,3
	7 медіально-щічні	18,2	20,2	22,2
	Нижня	1	19,6	21,5
2		20,2	22,4	24,6
3		22,9	25,2	27,5
4		20,1	22,1	24,1
5		19,1	21,4	23,7
6 дистальний		19,2	20,9	22,6
6 медіальний		19,1	20,9	22,7
7 дистальний		19,0	20,8	22,6
7 медіальний		19,2	20,9	22,6

Таблиця 2. Порівняння вимірювань, що здійснювались за допомогою різних методів визначення довжини каналу

Table 2. Comparison of measurements performed using different methods of determining the length of the channel

Об'єкт	Математичний метод (середній показник)	Електрометричний метод	Рентгенологічний (програмний) метод
Корень №1	20,8 мм	20,3 мм	19,29 мм
Корень №2	26 мм	25,7 мм	25,28 мм
Корень №3	19,9 мм	19,5 мм	19,70 мм

Існують альтернативні методи визначення довжини кореневого каналу. Тактильний метод являє собою визначення робочої довжини каналу, ґрунтуючись на тактильних відчуттях. Результат залежить від досвіду лікаря, тому метод є суб'єктивним і малодостовірним, особливо при несформованому апексі [13]. Метод паперових штифтів заснований на введенні паперового штифта в просушений кореневий канал до тих пір, поки вершина не стане вологою від тканинної рідини. Поява вологи на вершині штифта свідчить про доведення паперового штифта до апікального отвору, а довжина такого паперового штифта приймається за робочу довжину кореневого каналу. Істотними недоліками такого методу є часті запалення, зміни, розширення і кровотеча верхівки

кореня [14]. Рентгенограма з введенням файлу — це об'єктивний метод, який в більшості випадків дає можливість розпізнати верхівку при правильно зробленому знімку [15]. Проте існують значні труднощі у виконанні вимірювання довжини кореневого каналу у деяких пацієнтів (підвищений блювотний рефлекс, променеве навантаження). Крім того, прагнення до створення універсального малоінвазивного методу з мінімальним променевим навантаженням і дискомфортом пацієнта, зумовили не розглядати дані методи в статті (тактильний метод, метод паперових штифтів, рентгенограма з введеними файлами).

В результаті виконаної роботи були сегментовані структури кореневих каналів зуба та визначена їх довжина. Порівняння (табл. 2) електронного визначення робочої довжини з рентгенологічним показали, що електронна довжина та рентгенологічна, визначена за допомогою програми, не збігаються. При латеральному викривленні каналу рентгенівський знімок може показати коротшу робочу довжину, ніж прилади для апекслокації [16, 17], а також існує ймовірність некоректної сегментації коронки зуба, що зумовлена низькою яскравістю пікселів коронки і, як наслідок, коронка не враховується в дослідження довжини.

ВИСНОВКИ

Перевагою вимірювання довжини кореневого каналу за допомогою апекслокатору є значно більша точність (близько 0,5 мм) в порівнянні з методом рентгенографії, однак більш достовірним може бути поєднання цих двох методів, що потребує подальших статистичних досліджень. Особливу увагу при цьому слід приділити особливостям методів обробки та сегментації отриманих діагностичних зображень для забезпечення максимальної якості візуалізації контурів кореневих каналів. При сегментації головною умовою є коректний вибір граничного значення бінаризації. Для цього необхідно проводити гістограмний аналіз отриманих зображень та в процесі післяобробки виконувати фільтрацію локальних артефактів за допомогою морфологічних операцій.

ПОДЯКА

Робота виконана в рамках отримання освітньої кваліфікації доктора філософії за спеціальністю 163 «Біомедична інженерія» Харківського національного університету радіоелектроніки.

КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автор повідомляє про відсутність конфлікту інтересів.

Author's ORCID ID

О. М. Перепелиця  <https://orcid.org/0000-0001-6850-2013>

REFERENCES

1. Kovetskaya EE. Methods for determining the working length of the root canal. Modern dentistry. 2006;3:35–9 Available from: <http://www.mednovosti.by/journal.aspx?article=2740>. (In Russian).
2. Kovetskaya EE. Comparative evaluation of the effectiveness of methods for determining the working length of the root canal. Modern dentistry. 2006;4:11–3. Available from: <http://www.mednovosti.by/journal.aspx?article=2758>. (In Russian).
3. Latysheva SV, Abaimova OI, Bondarik EA. Basic principles of endodontic tooth preparation. Dental journal. 2003;2:2–6. (In Russian).
4. Propex Pixi® apex locator. User manual [Internet]. Dentsply Sirona; 2021 [cited 22 May 2021]. Available from: https://www.dentsplysirona.com/content/dam/dentsply/pim/manufacturer/Endodontics/Motors_Apex_Locators/Propex_Pixi/PROPEX%20PIXI%20EUROP_DFU_1018_MASTER_DSE_EN.pdf

5. Krainov SV, Popova AN, Firsova IV. Evaluation of the effectiveness of the electrometric method for determining the working length of the root canal using the example of the NovApex apex locator. Topical issues of modern dentistry: Proceedings of the Conference; 2010; Volgograd: OOO Blank; 2010. p. 248. (In Russian).
6. Silva G, Oliveira L, Pithon M. Automatic segmenting teeth in X-ray images: Trends, a novel data set, benchmarking and future perspectives. Expert Systems with Applications. 2018;107:15–31. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2018.04.001>
7. The MathWorks, Inc. Image Processing Toolbox [Internet]. [cited 2021 Aug 02]. Available from: <https://www.mathworks.com/products/image.html>
8. Shamraeva EO, Avrunin OG. Construction of models of cranial implants based on radiographic data. Applied radio electronics. 2005;4(4):441–3. Available from: https://openarchive.nure.ua/bitstream/document/5456/1/Prikladn_radioel-2005_T1-rus-67-69.pdf (In Russian).
9. Avrunin OG, Tymkovych MY, Moskovko SP, Romanyuk SO, Kotyra A, Smailova S. Using a priori data for segmentation anatomical structures of the brain. Przegląd elektrotechniczny. 2017;1(5):102–5. <https://doi.org/10.15199/48.2017.05.20>
10. Shamraeva, EO, Avrunin OG. Choice of a method for segmentation of bone structures on tomographic images. Bionics of intelligence: information, language, intelligence. 2006;65:83–7. (In Russian).
11. Avrunin OG. Visualization of the upper respiratory tract according to computed tomography. Radio electronics and informatics. 2007;4:119–22. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/n/vizualizatsiya-verhnih-dyhatelnyh-putey-po-dannym-kompyuternoy-tomografii/pdf> (In Russian).
12. Ingle J, Bakland L, Baumgartner J. Endodontics. Hamilton, Ontario; Lewiston, NY: BC Decker, 2008.
13. Solovyova AM. Features of conservative endodontic treatment for chronic periodontitis in teeth with incomplete root formation. Children's dentistry (Pediatric dentistry and dental profilaxis). 2000;1–2:79–83. (In Russian).
14. Khomenko LA, Bidenko NV. Practical endodontics. Tools, materials and methods. Moscow: Kniga Plus; 2005. 224 p. ISBN: 5-93268-003-2. (In Russian).
15. Mounce R. Determination of the true working length. Journal of Endodontics. 2007;43(1):17–19.
16. Shchapov PF, Avrunin OG. Obtaining information redundancy in measuring control systems and diagnostics of measuring objects. Ukrainian metrological journal. 2011;1:47–50. (In Ukrainian).
17. Avrunin OG, Bodyansky EV, Kalashnik MV, Semenets VV, Filatov VO. Modern intelligent technologies of functional medical diagnostics. Kharkiv: Press of the Kharkiv National University of Radioelectronics; 2018. 236 p. <https://doi.org/10.30837/978-966-659-234-0>. (In Ukrainian).

Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-03>

УДК 577.352

ЗМІНИ ЕЛЕКТРОФІЗИЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЕРИТРОЦИТІВ, ІНДУКОВАНІ ГРАМІЦИДИНОМ С

Т. М. Овсяннікова, А. О. Коваленко, В. П. Берест, О. Ю. Боріков

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4,
м. Харків, 61022, Україна;*

e-mail: ovsyannikova@karazin.ua

Надійшла до редакції 2 березня 2021 р. Переглянута 12 травня 2021 р.

Прийнята до друку 20 травня 2021 р.

Актуальність. Використання антимікробних пептидів є одним з можливих шляхів подолання загрозливого стрімкого зростання стійкості мікроорганізмів до традиційних антибіотиків. Особливої уваги в цьому контексті заслуговує граміцидин С (GS), який вже понад 70 років є сертифікованим для місцевого медичного застосування. Гострий побічний гемолітичний ефект GS щодо клітин людини перешкоджає його системному використанню. Розуміння молекулярних механізмів взаємодії GS з біологічними мембранами дозволить з одного боку підсилити його бактерицидний ефект, а з іншого — зменшити негативні побічні ефекти щодо клітин людини й таким чином розширити спектр застосування антибактеріальних пептидів для боротьби з інфекційними захворюваннями, викликаними резистентними мікроорганізмами.

Мета роботи. Вивчення впливу різних доз антимікробного олігопептидного антибіотика GS на морфологічні та електрофізичні характеристики еритроцитів людини при інкубації *in vitro*.

Матеріали та методи. Методом проточної цитометрії з використанням спектроскопії імпульсів опору досліджено морфологічні зміни еритроцитів здорових донорів після попередньої інкубації з GS в концентраціях 5–40 мкг/мл. Вимірювали об'єм поодиноких клітин, розподіл еритроцитів за об'ємом в популяції та визначали величину потенціалу електричного пробоя плазматичної мембрани еритроцитів людини.

Результати. Інкубація еритроцитів людини з сублітичними концентраціями GS супроводжується перерозподілом еритроцитів за об'ємом зі збільшенням частки еритроцитів меншого об'єму з меншим значенням стійкості мембрани до електричного пробоя. Проте, збільшення концентрації GS до 40 мкг/мл, навпаки, призводить до збільшення частки клітин збільшеного об'єму з підвищеною стійкістю до електричного пробоя мембрани. Обговорюються можливі механізми морфологічних змін еритроцитів під дією GS.

Висновки. Інкубація еритроцитів з GS у концентраціях 5–40 мкг/мл супроводжується перерозподілом клітин за об'ємом та зміною стійкості плазматичних мембран еритроцитів до електричного пробоя, обумовленою дестабілізуючою мембранотропною дією пептиду, мікровезикуляцією еритроцитів за малих концентрацій пептиду або порушенням цитоскелету клітин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: граміцидин С; еритроцити; електричний пробій мембрани; об'ємний розподіл.

CHANGES IN ELECTROPHYSICAL CHARACTERISTICS OF RED BLOOD CELLS INDUCED BY GRAMICIDIN S

T. M. Ovsyannikova, A. O. Kovalenko, V. P. Berest, O. Yu. Borikov

V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Square, Kharkiv, 61022, Ukraine

e-mail: ovsyannikova@karazin.ua

© Овсяннікова Т. М., Коваленко А. О., Берест В. П., Боріков О. Ю., 2021. **Open Access.** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>

Як цитувати: Овсяннікова Т. М., Коваленко А. О., Берест В. П., Боріков О. Ю. Зміни електрофізичних характеристик еритроцитів, індуковані граміцидином С. Біофізичний вісник. 2021;45:32-43. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-03>

Cite this article: Ovsyannikova T. M., Kovalenko A. O., Berest V. P., Borikov O. Yu. Changes in electrophysical characteristics of red blood cells induced by gramicidin S. Biophysical Bulletin. 2021;45:32-43. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-03>

Background. The use of antimicrobial peptides is one of the possible ways to overcome the threatening rapid growth of resistance of microorganisms to traditional antibiotics. Of particular role in this context is gramicidin S (GS), which is used for topical medical application for over 70 years. Acute hemolytic side effect of GS on human cells prevents its systemic use. Understanding the molecular mechanisms of interaction of GS with biological membranes will enhance its bactericidal effect on the one hand, and reduce the negative side effects on human cells and thus expand the range of antibacterial peptides to combat infectious diseases caused by resistant microorganisms.

Objectives. Study of the effect of different doses of the antimicrobial oligopeptide antibiotic GS on the morphological and electrophysical characteristics of human erythrocytes during *in vitro* incubation.

Materials and methods. Morphological changes of erythrocytes of healthy donors after preliminary incubation with GS at concentrations 5–40 µg/ml were studied by flow cytometry using resistance pulse spectroscopy. Single cell volume, erythrocyte volume distribution in the population was measured, and the electrical breakdown potential of the human erythrocyte plasma membrane was determined.

Results. Incubation of human erythrocytes with sub-lytic concentrations of GS is accompanied by redistribution of erythrocytes in this population by volume with increased number of smaller erythrocytes with less resistance of the membrane to electrical breakdown. However, increasing the concentration of GS to 40 µg/ml leads to an increase in the proportion of cells of increased volume with increased resistance to electrical breakdown of the membrane. Possible mechanisms of morphological changes of erythrocytes under the action of GS are discussed.

Conclusions. Incubation of erythrocytes with GS at concentrations 5–40 µg/ml is accompanied by redistribution of cells by volume and changes in the resistance of their plasma membrane to electrical breakdown due to destabilizing membrane-tropic action of the peptide, microvesiculation or cytoskeleton rearrangement.

KEY WORDS: gramicidin S; erythrocytes; electrical membrane breakdown; volume distribution.

ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭРИТРОЦИТОВ, ИНУЦИРОВАННЫЕ ГРАМИЦИДИНОМ С

Т. Н. Овсянникова, А. А. Коваленко, В. П. Берест, А. Ю. Бориков

Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина пл. Свободы, 4,

г. Харьков, 61022, Украина;

e-mail: ovsyannikova@karazin.ua

Актуальность. Использование антимикробных пептидов является одним из возможных путей преодоления стремительного роста устойчивости микроорганизмов к традиционным антибиотикам. Особого внимания в этом контексте заслуживает грамицидин С (GS), который уже более 70 лет является сертифицированным для местного медицинского применения. Острый побочный гемолитический эффект GS для клеток человека препятствует его системному использованию. Понимание молекулярных механизмов взаимодействия GS с биологическими мембранами позволит с одной стороны усилить его бактерицидный эффект, а с другой – уменьшить негативные побочные эффекты в отношении клеток человека и таким образом расширить спектр применения антибактериальных пептидов для борьбы с инфекционными заболеваниями, вызванными резистентными микроорганизмами.

Цель работы. Изучение влияния различных доз антимикробного олигопептидного антибиотика GS на морфологические и электрофизические характеристики эритроцитов человека при инкубации *in vitro*.

Материалы и методы. Методом проточной цитометрии с использованием спектроскопии импульсов сопротивления исследовано морфологические изменения эритроцитов здоровых доноров после предварительной инкубации с GS в концентрациях 5–40 мкг/мл. Измеряли объем единичных клеток, распределение эритроцитов по объему в популяции и определяли величину потенциала электрического пробоя плазматической мембраны эритроцитов человека.

Результаты. Инкубация эритроцитов человека с сублитическими концентрациями GS сопровождается перераспределением эритроцитов по объему с увеличением доли эритроцитов меньшего объема с меньшим значением устойчивости мембраны к электрическому пробую. Однако, увеличение концентрации GS до 40 мкг/мл, наоборот, приводит к увеличению доли клеток увеличенного объема с повышенной устойчивостью к электрическому пробую мембраны. Обсуждаются возможные механизмы морфологических изменений эритроцитов под действием GS.

Выводы. Инкубация эритроцитов с GS в концентрациях 5–40 мкг/мл сопровождается перераспределением клеток по объему и изменением устойчивости плазматических мембран эритроцитов к электрическому пробую, обусловленной дестабилизирующим мембранотропным

действием пептида, микровезикуляцией эритроцитов при малых концентрации пептида или нарушением цитоскелета клеток.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: грамицидин С; эритроциты; электрический пробой мембраны; распределение эритроцитов по объему в популяции клеток.

Зниження ефективності використання традиційних антибіотиків в лікуванні інфекційних захворювань людини, пов'язане з постійно зростаючим числом штамів мікроорганізмів резистентних до даної групи препаратів, є однією з найгостріших медичних проблем сучасності. У зв'язку з цим актуальним вбачається пошук нових антибіотиків, альтернативних методів і засобів антибактеріальної терапії.

Граміцидин С (GS) — циклічний декапептид групи тіотрицинових антибіотиків, який згубно впливає на грампозитивні бактерії і є менш ефективним проти грамнегативних штамів [1], також відомо, що GS може зв'язуватись з вірусним частинками [24]. На відміну від більшості сучасних антибіотиків GS реалізує свою антибактеріальну дію не шляхом пригнічення метаболічних процесів або перешкоджаючи реалізації генетичної інформації, а безпосередньо порушуючи цілісність бактеріальної мембрани. При цьому мікроорганізми практично не розвивають стійкість до цього препарату. Однією з ключових особливостей вторинної структури GS, яка визначає його мембранотропні властивості, є амфифільність молекули. Амінокислотні залишки L-орнітину з позитивно зарядженими бічними ланцюгами, розташовані з одного боку пласкої молекули, залишками D-фенілаланіну з гідрофобними бічними ланцюгами – на протилежному боці [2]. Вважається, що позитивно заряджені бічні ланцюги забезпечують електростатичну взаємодію з негативно зарядженими ліпідами бактеріальної мембрани з наступним вбудовуванням в ліпідний бішар для максимізації гідрофобних взаємодій. Раніше було показано, що вбудовування катіонних антимікробних пептидів, таких як GS, в бактеріальну мембрану супроводжується її витонченням [3] з подальшим утворенням пор і внаслідок цього руйнуванням ліпідного бішару [4, 5, 6]. Результати досліджень взаємодії GS з мембраною показують, що антибіотик занурюється в рідкокристалічний ліпідний бішар як в модельних, так і в біологічних мембранах, імовірно локалізуючись в площині моношару нижче полярних головних груп фосфоліпідів і вище вуглеводневих ланцюгів залишків жирних кислот. Припускають, що GS порушує упаковку ліпідів в бішарі і може сприяти утворенню інвертованих кубічних фаз в ліпідах при більш низьких температурах, ніж це спостерігається за відсутності пептиду [6]. Можливим є проникнення декапептиду у внутрішній моношар клітинної мембрани і навіть його перехід у цитоплазму з ураженням внутрішньоклітинних мішеней.

Основним негативним побічним ефектом GS, який сильно обмежує його системне застосування в медичній практиці, є висока гемолітична активність, яка проявляється в дозах близьких до терапевтичних [7, 8]. При цьому, не дивлячись на тривалу історію застосування даного препарату, механізми взаємодії GS з плазматичними мембранами про- і еукаріотів залишаються недостатньо вивченими. Дослідження фізичних принципів і молекулярних механізмів взаємодії GS з біомембранами може сприяти як розширенню його терапевтичного потенціалу, так і стати теоретичною основою для розробки менш токсичних і більш ефективних аналогів.

Метою представленої роботи було вивчення впливу сублітичних доз GS на морфологічні та електрофізичні характеристики еритроцитів при інкубації *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вимірювання проводили на електроцитаналізаторі ЕЦА-02, модель К (МВ НПП «ТИМЕЛ», Харків, Україна).

Метод спектроскопії імпульсів опору заснований на вимірюванні зміни величини електричного струму, що протікає між двома платиновими електродами, який виникає при проходженні клітини через отвір датчика, що розділяє електроди.

Співвідношення між об'ємом клітини і зміною електричного струму при проходженні клітини крізь отвір датчика має вигляд:

$$\frac{\Delta I}{I} = -\gamma \frac{V_{кл}}{kV_{д} - V_{кл}}, \quad (1)$$

де $V_{кл}$ — об'єм клітини; $V_{д}$ — ефективний об'єм датчика; I — сила струму, що проходить крізь датчик; ΔI — амплітуда зміни струму при проходженні клітини через датчик; γ — фактор форми ($\gamma=1,5$ для сфери, $\gamma=1,2$ для дискоцитів), параметр k є функцією від ω — відношення питомого електричного опору суспендованих частинок до питомого електричного опору середовища, яке розраховується за формулою:

$$k = 1 + \frac{\gamma}{\omega - 1} \quad (2)$$

для не провідних частинок ($\omega \gg 1$), k наближається до 1 [18].

Реєструючи силу струму, що проходить крізь датчик, можливо вимірювати об'єм клітин, а також їх кількість, яка буде дорівнювати сумі імпульсів струму за фіксований проміжок часу.

У роботі використано медичний препарат грамїцидину С («Renewal»). 2% водно-етанольний розчин GS розводили у 30-50 разів 0,15 М NaCl (рН 7,4). Для виключення впливу розчинника було здійснено контрольні вимірювання, які показали, що розчин етанолу в концентрації до 1 об'ємного відсотка не впливає на об'ємний розподіл суспензії клітин.

Еритроцити одержували з крові 7 здорових донорів-добровольців різної статі віком від 20 до 35 років. Донорську кров відбирали в пробірку з цитратним буфером, рН 7,4, після чого центрифугували при 3000 об/хв для осадження еритромаси. Осад еритроцитів тричі відмивали фізіологічним розчином у співвідношенні 1:1,5 з наступним центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 3 хв.

Аліквоти еритромаси кожного донора інкубували з розчинами GS різної концентрації (5, 10, 20, 40 мкг/мл) протягом 15 хв при постійному обережному перемішуванні. 5 мкл зразка додавали в кювету приладу з 5 мл фізіологічного розчину, опустивши датчик в кювету, проводили забір рідини, при постійному тиску 280 атм, покроково змінюючи силу струму на 50 мкА для накопичення гістограм. Для вимірювання електричної точки пробую мембрани еритроцитів силу струму змінювали в діапазоні від 100 мкА до 950 мкА. Для накопичення даних при кожному із встановлених значень сили струму реєстрували спектри імпульсів опору 8 192 клітин.

Опис і аналіз досліджуваних показників еритроцитів проводились для кожного донора індивідуально. Зміни всіх розглянутих параметрів різних донорів мали однакові тенденції, в зв'язку з чим в статті для ілюстрації наведено типові результати окремого донора.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Еритроцитарний пул в досліджуваних контрольних зразках крові був неоднорідний: поряд з клітинами нормальної референтної величини [9] в аналізованій аліквоті еритромаси визначалися малі та великі еритроцити, в приблизній пропорції 2,2:1,5:1,0 в порядку зростання розмірів клітини (рис. 1 а)

Клітини субпопуляції малих еритроцити пошкоджуються при значеннях сили струму — близько 82 мкА, середні отримують пробій при струмі трохи більше 330 мкА,

великі — понад 513 мкА (рис. 1 б).

Інкубація еритромаси з розчином GS різних концентрацій призводить до появи клітин різного об'єму (рис. 2 а–с). Співвідношення субпопуляцій еритроцитів в пулі клітин одного і того ж донора при різних концентраціях GS розрізнялися як між собою, так і з контролем.

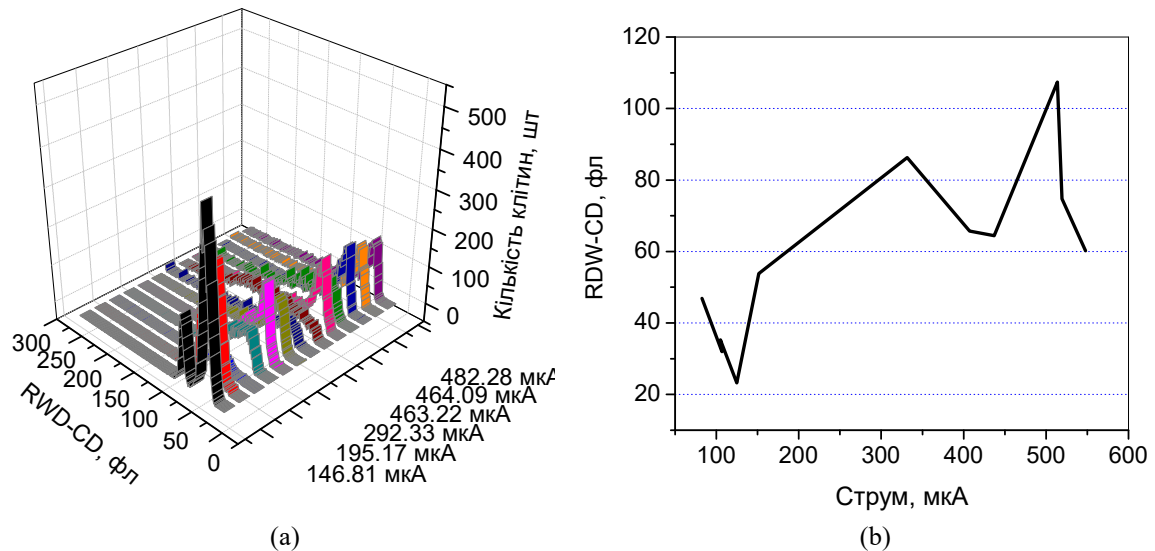


Рис. 1. Розподіл еритроцитів за об'ємом (RWD-CD) (а) та стійкістю мембрани до електричного пробую (б) в контрольних зразках.

Fig. 1. Distribution of native red blood cells by volume (RWD-CD) (a) and by membrane ability to withstand electrical breakdown (b).

У всіх випадках показано наявність переважної групи клітин з об'ємом, який є близьким до референтних показників (еритроцити середнього розміру). Друга субпопуляція еритроцитів, яка значною мірою представлена в контрольному зразку, — еритроцити більших розмірів у порівнянні з основною масою клітин в загальному пулі. Ця субпопуляція зберігається і після інкубації з антибіотиком, але в кількість клітин її дещо знижується щодо контролю. Разом з тим, спостерігається як зменшення, так і збільшення об'єму ряду клітин, тобто в загальній масі формуються групи еритроцитів, які за розмірами відрізняються від клітин переважаючого пулу. Так, чітко виділяється група невеликих за розмірами еритроцитів, яка з'являється при інкубації з GS в концентрації 5 мкг/мл, стає значимо представленою при 10 мкг/мл, зменшується при 20 мкг/мл і практично зникає при інкубації еритромаси з GS у концентрації 40 мкг/мл. Поряд з цим частина клітин збільшується в розмірах, причому це збільшення неоднорідне і при різних дозах доходить до величин від 80 фл до 200 фл.

Загальна картина розподілу клітин за об'ємом при дії різних концентрацій антибіотика виглядає наступним чином (див. Рис. 2, а, b, c, d). У пулі еритроцитів є стійка до дії GS субпопуляція клітин, яка складає найбільшу групу клітини, що мають об'єм, близький до референтних величин. Збільшення дози GS послідовно від 5 до 40 мкг/мл викликає різноспрямовані зміни загального пулу клітин за об'ємом. При низьких і середніх дозах в загальній масі з'являються клітини, схильні до зменшення свого об'єму, такі клітини переважають, особливо при концентрації 10 мкг/мл. Зі збільшенням концентрації GS вище 10 мкг/мл збільшується частка еритроцитів великого об'єму. Зміни у розподілі клітин за об'ємом відбуваються за рахунок еритроцитів основної групи

клітин середнього розміру.

Певним чином пояснити механізм взаємодії спостережуваного впливу GS на розподіл популяції еритроцитів за об'ємом допомагають результати вимірювання струму пробою мембрани клітин, інкубованих із різними концентраціями антибіотика.

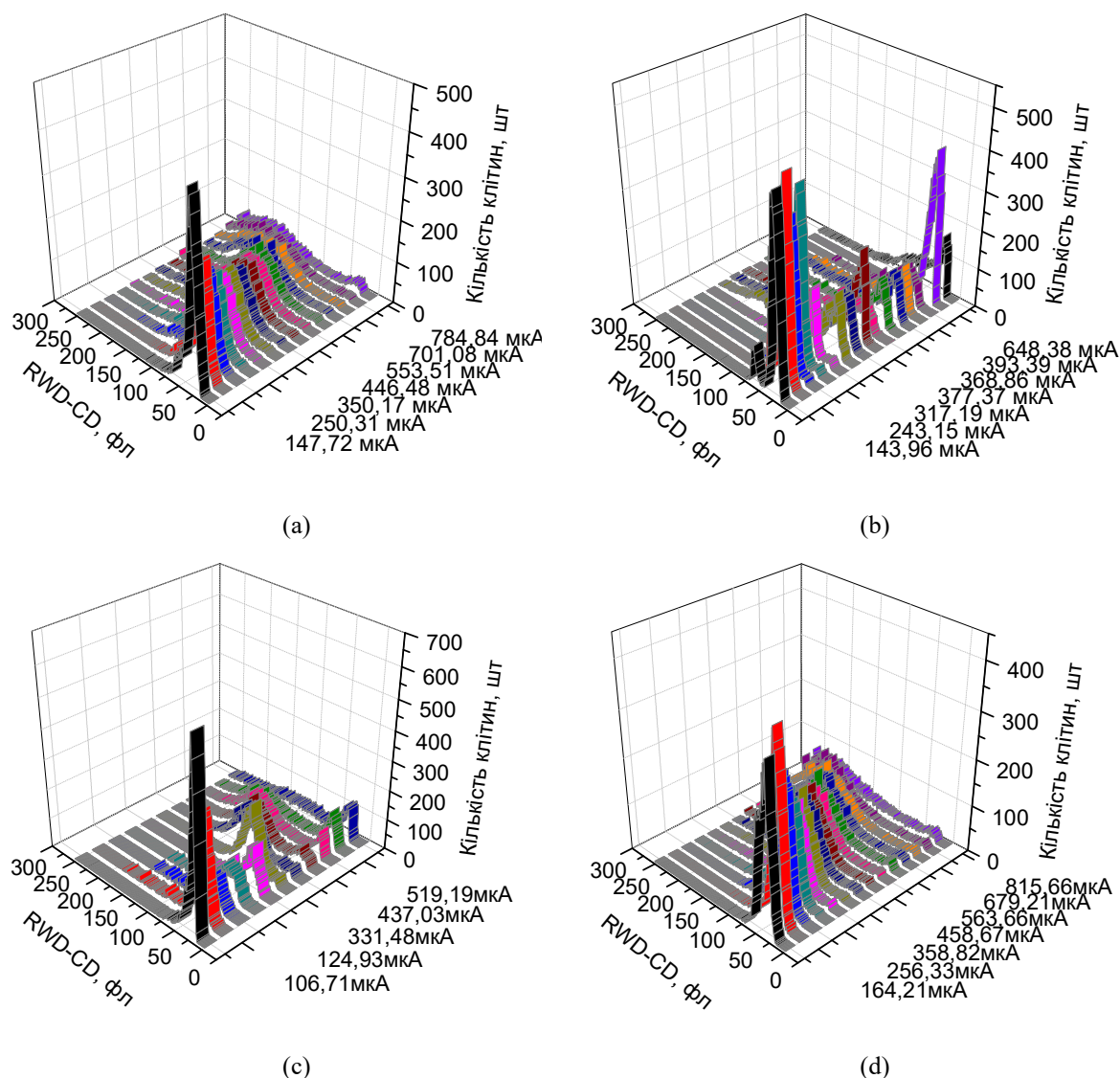


Рис. 2. Розподіл еритроцитів за об'ємом (RWD-CD) в зразку еритромаси після інкубації клітин з GS в концентраціях 5, 10, 20, 40 мкг на 1 мл суспензії еритроцитів (відповідно — а, б, с, д).

Fig. 2. Volume distribution (RWD-CD) of RBCs incubated with GS at concentrations 5, 10, 20, 40 µg/ml (respectively — a, b, c, d).

Формування неоднорідності пулу еритроцитів під дією антибіотика впливає на загальну картину пошкодження еритроцитів при дії струму різної величини (рис. 3 а–с). Після інкубації з GS формуються підгрупи еритроцитів з різною стійкістю мембрани до дії електричних імпульсів. Якщо в контрольних зразках електричний пробій явно вказував на наявність двох популяцій еритроцитів у донора, то після інкубації з антибіотиком їх число зростало при малих концентраціях GS (5 і 10 мкг/мл), а при концентрації 20 мкг/мл знову спостерігалася наявність двох субпопуляцій, пробій

мембран однієї відбувається при струмі близькому до 125 мкА, другої — при струмі близькому до 550 мкА.

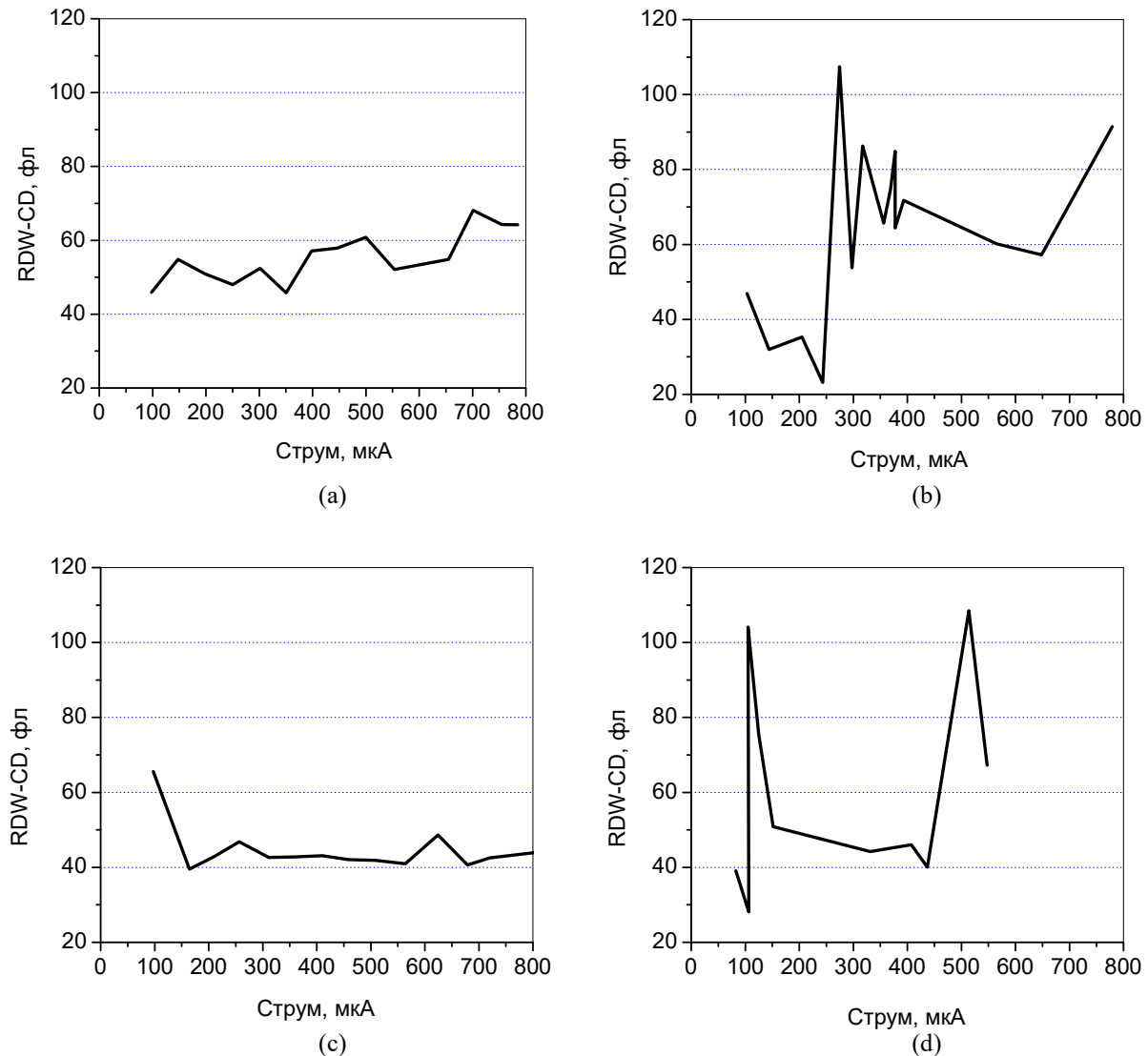


Рис. 3. Показники стійкості мембрани еритроцитів до електричного пробію після інкубації клітин з GS в концентраціях 5, 10, 20, 40 мкг на 1 мл еритромаси (відповідно — а, б, с, д).

Fig. 3. Resistance of RBC membrane to electrical breakdown upon preliminary incubation of cells with GS at concentrations 5, 10, 20, 40 $\mu\text{g/ml}$ (respectively — a, b, c, d).

Звертає на себе увагу і той факт, що при використанні антибіотика в дозах 10 і 20 мкг/мл пошкодження мембран еритроцитів проявлялося в клітинах однакового об'єму, але при різних силах струму. У таких випадках, ймовірно, крихкість клітини залежала від різних причин, тобто пробій був обумовлений різними молекулярними механізмами.

У присутності GS в концентрації 40 мкг/мл вже при мінімальних струмових навантаженнях близько 100 мкА спостерігалось явище, схоже на мембранний пробій, після якого об'єм клітин зменшувався з референтних значень до більш низьких показників. При подальшому збільшенні сили струму не спостерігалось будь-яких подій, що вказують на електричний пробій мембран і критичну зміну об'єму клітин.

Таким чином, в результаті проведених досліджень було показано, що при низьких концентраціях GS частина еритроцитів із загального пулу аналізованих клітин зменшується в розмірах. Зниження об'єму еритроцитів в цих умовах може бути пов'язано з утворенням локальних дефектів мембрани і посиленням процесів утворення мікровезикул. Біогенез і секреція мікровезикул є невід'ємною частиною фізіології еритроцитів, яка пов'язана з дозріванням і старінням клітин і сприяє своєчасному позбавленню від пошкоджених компонентів, які в іншому випадку можуть викликати небажані гемостатичні та імунологічні реакції [10]. Вивільнення мікровезикул супроводжується зміною співвідношення об'єму і площі поверхні клітин в результаті ремоделювання мембрани [11]. Відділення мікровезикул від еритроцитів сприяє втраті гемоглобіну (до 20%) і частини клітинної мембрани з одночасним зменшенням об'єму клітин і збільшенням їх щільності [12].

Отримані дані частково підтверджуються дослідженнями уніламельярних ліпідних везикул із димірістоїлфосфатидилхоліну (ДМФХ), що містять різні концентрації GS, проведені авторами [13] за допомогою денситометрії та звукової вело симетрії, в яких було встановлено, що включення GS поступово знижує температуру фазового переходу ДМФХ везикул, а також знижує ступінь кооперативності основного фазового переходу і збільшує об'ємну стисливість везикул. GS, ймовірно, посилює теплові флуктуації в області основного фазового переходу і забезпечує більшу свободу обертального руху для вуглеводневих ланцюгів фосфоліпідів. Здатність GS збільшувати стисливість мембрани і знижувати температуру фазового переходу свідчить про наявність ділянок спотвореної структури мембрани навколо вбудованих молекул антибіотика.

В нашому дослідженні встановлено підвищення питомого об'єму еритроцитів при відносно високій концентрації GS. Це так само може вказувати на порушення цілісності ліпідного бішару при взаємодії з високими концентраціями GS.

Певну послідовність морфологічних змін еритроцитів при інкубації з різними концентраціями GS визначено в роботі [7] з використанням моделі двошарового зчеплення (bilayer-couple hypothesis) [14]. Автори [7] відзначають, що напочатку GS адсорбується на мембрані еритроцита, що знаходиться в формі дискоцита, це розширює його зовнішній ліпідний шар і призводить до трансформації клітини в ехіноцит. Наступна форма яка спостерігається авторами [7] — дискоцит — формується, коли вміст пептиду тимчасово вирівнюється між двома моношарами, в результаті його переміщення у внутрішній моношар за допомогою критичного механізму або утворення перехідних пір. Оскільки внутрішній ліпідний моношар еритроцитів містить більше негативно заряджених ліпідів, ніж зовнішній моношар [15], GS накопичується у внутрішньому моношарі плазмалемі завдяки своєму подвійному позитивному заряду. Через результуючу більш високу концентрацію антибіотика у внутрішньому ліпідному моношарі площа його збільшується, що і веде до формування стоматоцитів. Коли внутрішній ліпідний моношар насичується GS, зовнішній моношар також дифузно заповнюється пептидом, що знову призводить до формування еритроцитів – дискоцитів, але, мабуть, з більшим об'ємом, ніж у інтактних клітин. Важливу роль в спостережуваних трансформаціях форми клітин автори резервують за компонентами цитоскелету еритроцитів, які залишаються за межами розгляду в рамках даної моделі. У той же час було показано, що модель двошарового зчеплення вимагає існування еластичного мембранного каркаса, пов'язаного з мембраною, щоб різниця в площах моношарів мембрани викликала характерні перетворення форми [16] Таким чином, починаючи з природної форми дискоцитів, морфологія еритроцитів зазнає послідовність трансформацій: ехіноцит — дискоцит — стоматоцит — дискоцит — сфероцит — тіль. Подальше перетворення еритроцитів в сфероцити виходить за рамки моделі двошарового зчеплення, але може бути пояснено

збільшенням мембранного натягу: відомо, що деякі амфифільні пептиди збільшують натяг мембрани, яка зі свого боку прагне мінімізувати площу поверхні. Спостережувана зміна морфології дискоцитів в сфероцит може бути пов'язана з цим ефектом, тобто сферична форма мінімізує площу поверхні для даного фіксованого об'єму. Підвищений натяг мембрани також може пояснити останній етап в послідовності трансформації форми еритроцитів. Пори мембрани, що виникли внаслідок дефектів, швидко розширюються під дією високої напруги [17], що викликає розрив еритроцитів, перетворюючи їх в тіні, позбавлені гемоглобіну.

Авторами [7] було показано, що еритроцити демонструють послідовність перетворень форми при впливі GS в діапазоні концентрацій 10–20 мкМ. Використаний нами метод спектроскопії імпульсів опору не дозволяє безпосередньо визначати форму клітин. Ми припускаємо, що подібна зміна форми еритроцитів могла відбуватися і за наших експериментальних умов, проте присутність еритроцитів різної форми в аналізованих суспензіях мала б викликати утворення полімодальних гістограм, чого не спостерігалося в наших експериментах з проточної цитометрії. Ми пояснюємо отриману надзвичайно гетерогенну картину розподілу еритроцитів як за об'ємом, так і за силою струму електричного пробую (рис. 1–3) зменшенням об'єму клітин внаслідок мікровезикуляції. Цей процес може бути опосередкований вбудовуванням GS у екстрацелюлярний моношар мембрани еритроцита, формуванням обернених або кубічних ліпідних фаз та провокуванням «відшнуровування» фрагментів мембран [22]. Цей ефект імовірно не залежить від роботи ліпід-транслокуючих ферментів та цитоскелету. Вищі концентрації GS, використані в нашій роботі, викликають збільшення об'єму клітин також не через осмотичні ефекти. Часова залежність цих змін дає нам можливість припустити, що зміна об'єму в цьому випадку відбувається за рахунок перерозподілу GS у внутрішній моношар плазмалемми та може бути опосередкована викликанною GS зміною проникності мембран еритроцитів до іонів Ca^{2+} , активацією моторних нанодоменів цитоскелету, транслоказ та скрамблаз. Подібну кальцій-залежну активацію тромбоцитів було вивчено у наших попередніх роботах [23].

За допомогою екстраполяції отриманих результатів дослідів впливу різного часу інкубації GS з еритроцитами *in vitro* на рівень цілого організму можна припустити, що, перше, навіть сублітичні концентрації GS викликають приховані зміни у червоних кров'яних клітинах — зменшується стійкість мембран до електричного пробую. Це відбувається через перерозподіл заряджених та незаряджених ліпідів в мембрані з утворенням кластерів з різною електричною ємністю та відзначене раніше зменшення поверхневого потенціалу плазматичної мембрани при інкубації з GS [19]. Такі зміни структури мембран можуть призводити до утворення агрегатів клітин, а в наслідок цього — зниженню ефективності газо- та масообмінних процесів в капілярах й до гіпоксії; крім того можуть відбуватися зміни в'язкості цільної крові, що позначатиметься на показниках гемодинаміки, вести до гіпертензії, надлишкового навантаження на серце. По-друге, сублітичні концентрації GS при тривалому інкубуванні та літичні при коротких експозиціях ведуть до зміни об'єму еритроцитів та зменшення електромеханічної стійкості їх мембран. Крім щойно описаних ефектів викликаних змінами біофізичних характеристик плазматичної мембрани, на рівні системи циркуляції крові та цілого організму зменшення чи збільшення об'єму еритроцитів веде до зменшення концентрації гемоглобіну, зниження ефективності транспорту кисню та CO_2 і врешті до гіпоксії та ішемії. Це додаткові до гемолізу еритроцитів несприятливі фактори впливу «прямого» застосування GS через системний кровообіг. Можливість корегування гемолітичної дії GS шляхом застосування комплексів антибіотику із наноносіями та модифікації структури пептиду показано в роботах [20, 21, 2]. Перевагою першого підходу є використання нової

лікарської форми зареєстрованого фармпрепарату, позаяк переваги хімічно модифікованих аналогів, які спостерігалися *in vitro*, мають бути підтверджені та пройти тривалу процедуру погодження та реєстрації нового лікарського засобу. Виявлені нами нові побічні ефекти від віртуального системного застосування GS мають бути враховані при пошуку можливості внутрішнього використання GS чи створенні препаратів-аналогів. З іншого боку, віднайдені особливості взаємодії GS з мембранами клітин ссавців можуть бути універсальними й проявлятися для бактеріальних клітин, простіших, грибів та вірусів. В такому випадку наведені у нашій статті нові механізми пошкоджуючої дії GS можуть бути враховані при оптимізації захисту від хвороботворних мікроорганізмів та створенню нових підходів до боротьби з антибіотиковою резистентністю.

Крім того застосований нами підхід щодо аналізу змін розподілу еритроцитів за об'ємом під впливом фармпрепарату дозволив визначити зміни у різних за віком фракціях еритроцитів. Це може бути корисним з огляду на більш персоналізований підхід до визначення впливу лікарського засобу на окремого пацієнта. Більше того, відома зміна морфо-функціональних характеристик різних фракцій еритроцитів під час тривалого зберігання донорської крові чи еритромаси може бути використана для оптимізації криозахисних середовищ із вмістом GS.

ВИСНОВКИ

Зміни об'єму та величини електричного пробою мембрани після інкубації еритромаси з GS у всіх обстежених донорів були односпрямованими у гетерогенній популяції еритроцитів здорових донорів.

Сублітичні концентрації GS (5 і 10 мкг антибіотика на 1 мл еритромаси) при інкубації протягом 15 хв викликають зменшення об'єму частини еритроцитів у всіх донорів.

Інкубація еритроцитів протягом 15 хв з GS в концентрації 20 мкг/мл веде до посилення гетерогенності їх пулу, що, ймовірно, пов'язано з граничним заповненням сайтів зв'язування антибіотика на мембрані клітин при даній концентрації.

GS у концентрації 40 мкг/мл викликає збільшення об'єму клітин, хоча після 15 хвилинної інкубації не призводить до їх гемолізу.

Отримані дані можуть бути використані для розширення спектру застосування антибактеріальних пептидів в медичній практиці, а також розробки більш ефективних і менш токсичних аналогів.

ПОДЯКА

Роботу виконано в рамках проекту фундаментального дослідження Міністерства освіти і науки України, номер держреєстрації 0118U002041.

КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Authors' ORCID ID

Овсяннікова Т. М.  <https://orcid.org/0000-0002-0344-0189>

Коваленко А. О.  <https://orcid.org/0000-0002-6332-8922>

Берест В. П.  <https://orcid.org/0000-0001-7779-154X>

Боріков О. Ю.  <https://orcid.org/0000-0001-5776-566X>

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Gause GF, Brazhnikova MG. Gramicidin S and its use in the Treatment of Infected Wounds. Nature. 1944; 154(3918):703. <https://doi.org/10.1038/154703a0>

2. Guan Q, Huang S, Jin Y, Campagne R, Alezra V, Wan Y. Recent Advances in the Exploration of Therapeutic Analogues of Gramicidin S, an Old but Still Potent Antimicrobial Peptide. *J Med Chem*. 2019;62(17):7603-17. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00156>
3. Wenzel M, Rautenbach M, Vosloo JA, Siersma T, Aisenbrey CHM, Zaitseva E, Laubscher WE, van Rensburg W, Behrends JC, Bechinger B, Hamoen LW. The Multifaceted Antibacterial Mechanisms of the Pioneering Peptide Antibiotics Tyrocidine and Gramicidin S. *mBio*. 2018;9(5):e00802-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.00802-18>
4. Katsu T, Kuroko M, Morikawa T, et al. Mechanism of membrane damage induced by the amphipathic peptides gramicidin S and melittin. *Biochim Biophys Acta*. 1989;983(2):135-41. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(89\)90226-5](https://doi.org/10.1016/0005-2736(89)90226-5)
5. Prenner EJ, Lewis RNAH, McElhaney RN. The interaction of the antimicrobial peptide gramicidin S with lipid bilayer model and biological membranes *Biochim Biophys Acta*. 1999;1462(1-2):201-21. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(99\)00207-2](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(99)00207-2)
6. Wu M, Maier E, Benz R, Hancock REW. Mechanism of interaction of different classes of cationic antimicrobial peptides with planar bilayers and with the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. *Biochemistry*. 1999;38(22):7235-42. <https://doi.org/10.1021/bi9826299>
7. Semrau S, Monster MWL, van der Knaap M, et al. Membrane lysis by gramicidin S visualized in red blood cells and giant vesicles. *Biochim Biophys Acta. Biomembranes*. 2010;1798(11):2033-39. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.07.001>
8. Swierstra J, Kapoorchan V, Knijnenburg A, et al. Structure, toxicity and antibiotic activity of gramicidin S and derivatives. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016;35(5):763-9. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2595-y>
9. Hoffmann JJML, Nabbe KCAM, van den Broek NMA. Effect of age and gender on reference intervals of red blood cell distribution width (RDW) and mean red cell volume (MCV). *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(12):2015-9. <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0155>
10. Leal JKF, Adjubo-Hermans MJW, Bosman GJCGM. Red Blood Cell Homeostasis: Mechanisms and Effects of Microvesicle Generation in Health and Disease. *Front Physiol*. 2018;9:703. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00703>
11. Blanc L, De Gassart A, Géminard C, Bette-Bobillo P, Vidal M. Exosome release by reticulocytes—An integral part of the red blood cell differentiation system. *Blood Cells Mol Dis*. 2005;35(1):21–6. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2005.04.008>
12. Thangaraju K, Neerukonda SN, Katneni U, Buehler PW. Extracellular Vesicles from Red Blood Cells and Their Evolving Roles in Health, Coagulopathy and Therapy. *Int J Mol Sci*. 2021;22(1):153. <https://doi.org/10.3390/ijms22010153>
13. Krivanek R, Rybar P, Prenner EJ, et al. Interaction of the antimicrobial peptide gramicidin S with dimyristoylphosphatidylcholine bilayer membranes: a densitometry and sound velocimetry study. *Biochim Biophys Acta. Biomembranes*. 2001;1510(1-2):452-63. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00376-X](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00376-X)
14. Lim GHW, Wortis M, Mukhopadhyay R. Stomatocyte–discocyte–echinocyte sequence of the human red blood cell: evidence for the bilayer-couple hypothesis from membrane mechanics. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(26):16766-69. <https://doi.org/10.1073/pnas.202617299>
15. Murate M, Abe M, Kasahara K, Iwabuchi K, Umeda M, Kobayashi T. Transbilayer distribution of lipids at nano scale. *J Cell Sci*. 2015;128(8):1627-38. <https://doi.org/10.1242/jcs.163105>
16. Huang HW, Chen F-Yu, Lee M-T. Molecular mechanism of peptide-induced pores in membranes. *Phys Rev Lett*. 2004;92(19):198304. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.92.198304>
17. Karatekin E, Sandre O, Brochard-Wyart F. Transient pores in vesicles. *Polym Int*. 2003;52(4):486-93. <https://doi.org/10.1002/pi.1007>
18. Grover NB, Naaman J, Ben-Sasson S, Doljanski F, Nadav E. Electrical Sizing of Particles in Suspensions: II. Experiments with Rigid Spheres. *Biophys J*. 1969;9(11):1415-25. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(69\)86462-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(69)86462-3)
19. Borikov OY, Morozova OM, Berest VP. Sub-Microfluidic Setup to Quantify Cell Surface & Charge Density. 2019 IEEE 2nd Ukraine Conference on Electrical and Computer Engineering. 2019:256–9 <https://doi.org/10.1109/UKRCON.2019.8879988>
20. Накл'єв В, Берест ВП. Зміна рухливості ліпідів мембрани впливає на взаємодію грамицидина S з еритроцитами людини. *Біофізичний вісник*. 2008;2(21):56-63. Available from: <https://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk/article/view/16742>
21. Berest VP, Sotnikov A, Sichevska LV. Lipid nanocarriers impede side effects of delivered antimicrobial peptide (*in press*)
22. Penič S, Mesarec L, Fošnarčič M, Mrówczyńska L, Hägerstrand H, Kralj-Iglič V, Iglič A. Budding and Fission of Membrane Vesicles: A Mini Review. *Front Phys*. 2020;8:342. <https://doi.org/10.3389/fphy.2020.00342>

23. Hackl EV, Berest VP, Gatash SV. Interaction of polypeptide antibiotic gramicidin S with platelets. *J Pept Sci.* 2012;18(12):748–54. <https://doi.org/10.1002/psc.2461>
24. Abdalla MA, McGaw LJ. Natural Cyclic Peptides as an Attractive Modality for Therapeutics: A Mini Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2018;23(8):2080. <https://doi.org/10.3390/molecules23082080>

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-04>

ВІТАЄМО З 70-РІЧЧЯМ!

(до ювілею професора Лонгіна Миколайовича Лисецького)



Цього року ми відзначаємо ювілей відомого вченого, провідного наукового співробітника Інституту сцинтиляційних матеріалів НТК «Інститут монокристалів» НАН України, професора Лонгіна Миколайовича Лисецького.

Л. М. Лисецький народився 3 червня 1951 р. в м. Харкові. Перші відомості про науку і напрямок майбутнього наукового шляху отримав в сім'ї. Батько — Микола Лонгінович, інженер-турбобудівник, працював на майбутньому «Турбоатомі», а потім — доцентом в Харківському політехнічному інституті. Мати — Масік Антоніна Хрисанфівна, доцент, потім завідувачка кафедри хімії Харківського інституту інженерів комунального будівництва.

В 1958–1968 роках навчався в середній школі № 6 м. Харкова (до 1917 р. та після 1991 р. — Маріїнська гімназія). Це була єдина в місті школа з українською

мовою викладання та посиленням вивченням англійської.

В 1968–1974 рр. навчався в Харківському політехнічному інституті, за дипломом — хімік-технолог зі спеціальності «Технологія електрохімічних виробництв». Результати дипломної роботи з досліджень анодних оксидних плівок на вентиляльних металах було опубліковано в тогочасних центральних журналах (зокрема, «Електрохімія»). Але Л. М. Лисецький без особливого жалю кинув вже значною мірою готову дисертацію на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук і з липня 1974 р. присвятив себе новому і на той час дуже модному напрямку — рідким кристалам.

Працюючи в Інституті монокристалів (зараз це НТК «Інститут монокристалів» НАН України з Інститутом сцинтиляційних матеріалів НАН України), він 1980 року захистив дисертацію в Інституті фізики НАН України в Києві і став кандидатом фізико-математичних наук. Тема дисертації — «Температурно-концентраційні залежності кроку спіралі в холестеричних рідких кристалах». За результатами цієї роботи були опубліковані статті в «Письмах в ЖЭТФ» та інших авторитетних виданнях, зокрема, огляд в «Успехах физических наук», який і досі інтенсивно цитується.

Поширивши свій підхід до моделювання ближнього порядку в системах анізотричних молекул на рідкі кристали інших типів (нематичні, смектичні) та суміші на їх основі, Л. М. Лисецький в 1993 р. захистив докторську дисертацію на тему «Макроскопічні прояви особливостей міжмолекулярних взаємодій в мезофазі».

Саме в часи роботи Л. М. Лисецького над докторською, в тривожні часи нашої країни, коли проблеми Чорнобиля були ще актуальними, академік Української академії аграрних наук і майбутній заступник міністра Мінчорнобиля незалежної України Б. С. Прістер зацікавився використанням рідких кристалів для детектування іонізуючих випромінювань. Приваблювала їх «біоеквівалентність» — на відміну від

сцинтиляційних та інших відомих детекторів, тут механізм відгуку сенсорного матеріалу був подібним до процесів в біологічних тканинах. Після перших успішних експериментів з детектування слабких низькоенергетичних випромінювань (а потім — і біологічно активного ультрафіолету) з використанням класичних рідкокристалічних композицій, увагу Л. М. Лисецького привернули реальні біологічні системи з рідкокристалічним впорядкуванням, а саме, модельні фосфоліпідні мембрани. Далі були цікаві бесіди і обмін ідеями з провідними українськими біофізиками, професорами Володимиром Яковичем Малєєвим і Юрієм Павловичем Благим — і шлях Лонгіна Миколайовича в біофізику був відкритий. Далі — низка дипломників з кафедри біофізики Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, які потім успішно захищали кандидатські дисертації: О. В. Ващенко, Н. О. Касян, Л. М. Завора, М. І. Сербіна, А. О. Краснікова; «науковою онукою» Лонгіна Миколайовича можна вважати і випускницю кафедри Л. В. Будянську... А також — функції наукового консультанта при захисті докторських дисертацій випускників кафедри біофізики, О. П. Федоряки та вже згадуваної Ольги Валеріївни Ващенко, яка змогла вихідну ідею свого керівника щодо впливу допантів на рідкокристалічні властивості ліотропних фаз фосфоліпідів розвинути в струнку концепцію взаємодії фармакологічних препаратів з фосфоліпідними біомембранами, що викликає значний інтерес як біофізиків, так і фармакологів з фармацевтами. Поряд з вихованням власних учнів, Лонгін Миколайович сприяв науковому зростанню молодих вчених біофізиків з академічних інститутів Харкова шляхом уважного та доброзичливого рецензування їх робіт на засіданнях проблемних наукових рад з біофізичної тематики та двох Спеціалізованих вчених рад Д 64.051.13 та Д 64.175.03.

Підсумовуючи формальні показники, вкажемо, що в 2002 р. д.ф.-м.н. Л. М. Лисецький отримав вчене звання професора; під його керівництвом було захищено 11 кандидатських і 2 докторські дисертації. У дев'яти докторів наук (включно з чл.-кор. НАН України В. М. Трусовою) Л. М. Лисецький був офіційним опонентом. Можна також відзначити, що син Л. М. Лисецького Микола (випускник Харківського державного університету), здобув ступені PhD та MBA і зараз є провідним спеціалістом фірми «Novartis», м. Бостон, США.

Цікаві і важливі наукові ідеї і результати, широка ерудиція, бездоганна наукова добросовісність здобули Л. М. Лисецькому значний авторитет в науковій спільноті. В 2005-2010 рр. він був членом Експертної ради з фізики ВАК України, а в 2017-2021 рр. — членом першого складу Наукового комітету Національної ради України з питань розвитку науки і технологій.

З «Біофізичним вісником» Лонгіна Миколайовича поєднує плідна співпраця з перших днів заснування журналу: окрім створення іміджу журналу низкою цікавих оригінальних статей, він постійно сприяє підтриманню рівня публікацій завдяки ретельному рецензуванню рукописів починаючи з їх первинного обговорення на наукових семінарах.

Від імені колег, учнів та редакції «Біофізичного вісника» побажаємо Лонгіну Миколайовичу Лисецькому натхнення, наснаги, міцного здоров'я, нових наукових ідей і нових здібних студентів та аспірантів!

В. П. Берест¹, М. В. Косевич^{1,2}

¹Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

²Фізико-технічний інститут низьких температур ім. Б. І. Веркіна Національної академії наук України, пр. Науки, 47, Харків, 61103, Україна

V. P. Berest  <https://orcid.org/0000-0001-7779-154X>
M. V. Kosevich  <https://orcid.org/0000-0003-0257-4588>

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2021-45-05>

ПАМ'ЯТІ ДМИТРА МИКОЛАЙОВИЧА ГОВОРУНА

Дмитро Миколайович Говорун був талановитим вченим та всебічно обдарованою людиною і займався він тим, що любив найбільше — дослідженням дивовижної молекули ДНК. Результатом його неординарного погляду на структуру та властивості цієї молекули стала не одна сотня статей, присвячених квантово-хімічним розрахункам ДНК. Особливо цікавими були його роботи останніх років, де він, розмірковуючи над причинами раку, розглядав точкові мутації в ДНК та різні типи водневого спарювання — Воблівське та Хугстинівське. Інформаційний світ Дмитра Миколайовича був заповнений особливостями структури нуклеїнової кислоти, її структурних складових, про що ним була написана не одна книга.

Дмитро Миколайович розпочав свою наукову діяльність у 1972 році після закінчення радіофізичного факультету Київського університету, вступивши в аспірантуру під керівництвом академіка Кондиленка Івана Івановича на кафедрі нелінійної оптики. У 1987 році, після захисту дисертації та отримання звання кандидата фізико-математичних наук, він почав працювати в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України у відділі, очолюваному професором Миколою Васильовичем Жовтовським, який в той час займався фундаментальною проблемою в молекулярній біології — білок-нуклеїновим впізнаванням. Саме робота з такими видатними вченими як М. В. Жовтовський, В. І. Данілов, Г. Х. Мацука, Г. В. Єльська вплинула на світогляд Дмитра Миколайовича і сформувала його як особистість в науці. В цьому відділі він пропрацював все своє життя, дуже швидко замінивши В. М. Жовтовського на посаді керівника після його передчасної смерті.

На той час у відділі працювали Світлана Самійленко (ІЧ спектроскопія) та Ігор Кондратюк (ЯМР спектроскопія). У відділі тоді було багато іншої молоді, але ми, співробітники спочатку МНІЦ «Відгук», а потім відділу фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України, спілкувалися більше з Дмитром, Світланою, Ігорем на різних конференціях та семінарах. Звичайно найбільш запам'яталися школи-семінари Галини Олександрівни Пучковської, які збирали й досі продовжують єднати талановитих людей з усіх куточків світу, а також харківські конференції зі спектроскопії біополімерів під керівництвом Володимира Яковича Малєєва. Наш відділ теж провів в ті далекі часи конференцію з фізики біологічних систем (з міжнародною участю) в Пущі-Водиці, Київ, 1998 р., під головуванням керівника нашого відділу професора Харкянена Валерія Миколайовича. На цій конференції у Дмитра Миколайовича зі співавторами було 8 доповідей, починаючи з основної доповіді, яку він зробив про фізико-хімічну концепцію функціонування біополімерів. Більша кількість робіт на цій конференції була тільки у відомого харківського біофізика Благого Юрія Павловича (9 доповідей).



Говорун Д. М.
(18.05.1950–20.12.2020)

Тоді ми всі були молоді, завзяті, допитливі, енергійні. Тому Дмитро Миколайович незабаром очолив відділ молекулярної та квантової біофізики, захистив докторську дисертацію (1999 р.) вже з біології під керівництвом проф. Генадія Харлампійовича Мацуки, став заступником директора інституту (2005), отримав звання члена-кореспондента НАН України (2006), був удостоєний Державної премії України в галузі науки і техніки (2008 р.) за цикл робіт «Фундаментальні фізичні властивості біополімерів, що визначають їхнє функціонування» в чудовому колективі з біофізиками — В. М. Харкяненом, Л. М. Христофоровим, Ю. П. Благим, В. О. Сорокіним, О. Н. Веселковим, М. О. Семеновим, О. І. Корнелюком, С. Н. Волковим, В. Я. Малєєвим. Вже в 2016 році Дмитро Миколайович отримав премію Scopus Awards Ukraine в номінації «Найкращий колектив вчених, який досяг значних наукових результатів без західних колаборацій». Дирекція та співробітники ІМБІГ НАНУ, Київського університету, його друзі дуже цінували Дмитра Миколайовича, що добре видно з його кар'єрного росту. Неоцінимо підтримку в блискучій кар'єрі Дмитра Миколайовича справили його рідні — жінка Тамара, донька Леся, полтавська родина.

Розмовляючи з Дмитром Миколайовичем, завжди можна було зрозуміти, в який момент тема розмови його повністю «поглинула» — його очі починали виблискувати і змінювався вираз обличчя. Теми були різні, але найбільший інтерес викликали теми, дотичні до біології та біофізики. Пригадую одну недавню розмову в середовищі професорів (більшість зі званнями член-кореспондента та академіка НАН України) про іпотерапію. Дмитро Миколайович був не в кращому фізичному стані, але його жвавий інтерес та кількість питань перевищували всіх інших, і після дискусії стан його покращився прямо на очах. Дмитро Миколайович відносився дуже толерантно до різних людей і був чемним і з опонентами по науці, і у житті.


Згадую останню зустріч з Дмитром Миколайовичем в березні 2020 року. Перебуваючи у справах в ІМБІГ та побачивши нові книжки Дмитра Миколайовича на виставкових табличках в інституті, мені дуже захотілося поговорити з ним, але вже був кінець робочого дня і я не знайшла в собі сил зайти у відділ. Але тут втрутилася доля і я випадково зустріла його на зупинці. Настрій у Дмитра Миколайовича був чудовий, він був повний нових планів та сподівань. В цей час він вже розпочав роботу з Горбом Леонідом Григоровичем, відомим фахівцем з квантової хімії та структурних досліджень ДНК, який продовжує розпочаті дослідження, очолює відділ молекулярної та квантової біофізики. Будемо сподіватися, що справа Дмитра Миколайовича Говоруна в надійних руках.

Дмитро Миколайович любив Україну, українську мову, добре знав історію, завжди працював з повною віддачею сил заради процвітання своєї країни, викладав в Києво-Могилянській Академії та Київському національному університеті імені Тараса Шевченка, мав численних студентів та аспірантів. Він входив до складу редакційних колегій наукових журналів — «Біофізичного вісника», «Біополімери і клітина», «Ukrainica Bioorganica Acta». Дмитро Миколайович нагороджений грамотою Верховної ради України, медаллю «В пам'ять 1500-летия Киева», знаком пошани Київського міського голови, низкою почесних грамот, відмінник освіти України, мав нагрудний знак «Изобретатель СССР» (більше 45 авторських свідоцтв на винаходи та патенти).

Ми, люди, які його добре знали, поважали, любили, будемо завжди пам'ятати, згадувати, наслідувати.

Г. І. Довбешко

*Відділ фізики біологічних систем, Інститут фізики НАН України,
пр. Науки, 46, Київ, 03028, Україна*

G. I. Dovbeshko  <https://orcid.org/0000-0002-7701-0106>

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

В редакцію подається електронний варіант статті (MS Word 2007 і вище) українською або англійською мовою через сайт журналу <http://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk> з направленням установи і експертним висновком у вигляді відсканованих файлів.

Текст набирається на аркушах формату А4 через один інтервал. Використовується шрифт Times New Roman 12 pt, вирівнювання тексту по ширині. Поля справа і зліва по 2,5 см, зверху – 3,5 см, знизу – 2 см. Математичні та хімічні символи вводяться до тексту статті за допомогою редактора MathType або Microsoft Equation. Рисунки, придатні до репродукції, у форматі *.emf, *.wmf, *.jpg, *.jpeg, *.png вставляються до тексту в межах площі сторінки, вказаної вище. Рисунки розміщувати в межах таблиці з прозорими зовнішніми границями у першому рядку, підпис та коментарі до рисунку – у другому рядку таблиці. Графіки будуються у програмних пакетах, призначених для обробки і візуалізації наукових даних: Origin, Mathcad тощо. Використання офісного пакету MS Excel для побудови графіків не допускається. Цифри і підписи на осях та надписах повинні мати шрифт 9 pt. Підписи під рисунками друкуються шрифтом 10 pt. Формули, таблиці й рисунки нумеруються послідовно арабськими цифрами, наприклад, (1); Табл. 1; Рис. 1. Якщо стаття написана українською мовою, підписи до рисунків і таблиць дублюються англійською мовою.

На першій сторінці зверху на першому рядку в лівому верхньому куті наводиться УДК (курсив, 11 pt). Після пропуску одного рядка, розміщується назва статті (великі літери, прямий напівжирний шрифт, 12 pt, вирівнювання по центру). Після пропуску одного рядка набираються ініціали, прізвища авторів (прямий напівжирний шрифт, 12 pt, вирівнювання по центру). На наступному рядку розміщуються повні назви й адреси установ, де виконувалась робота, адреса електронної пошти автора – контактної особи (курсив, 10 pt, вирівнювання по центру). Потім вміщується дата надходження статті до редакції: число – цифрами, місяць – прописом, рік – цифрами (шрифт прямий, 10 pt, вирівнювання по центру). На наступному рядку вміщується дата прийняття статті до друку (заповнюється редколегією).

Після пропуску одного рядка вміщуються три реферати (українською, англійською, російською мовами). Реферат мовою статті розміщується першим. Перед другим та третім рефератами з нових рядків пишуться назви статей (великими літерами, шрифт прямий, 10 pt, напівжирний, вирівнювання по центру), ініціали та прізвища авторів (шрифт прямий 10 pt, напівжирний, вирівнювання по центру), назви організацій та їх адреси (курсив 9 pt., вирівнювання по центру). Реферат повинен бути структурованим та містити наступні частини з заголовками: **Актуальність, Мета роботи, Матеріали і методи, Результати, Висновки**, які починаються з нового рядка. Слова “Реферат” і “Abstract” не пишуться. Заголовки структурних частин пишуться напівжирним шрифтом, після заголовка ставиться крапка. Текст реферату складає не менше 1800 та не більше 2000 фонетичних символів, тобто без проміжків між словами; прямий шрифт 10 pt. Реферати двома іншими мовами також повинні мати обсяг не менше 1800 на не більше 2000 фонетичних символів. На наступному рядку вміщуються 5-8 ключових слів, які розділяються між собою крапкою з комою (10 pt – перший реферат, 9 pt – другий та третій реферати). З початку рядка великими літерами, шрифт напівжирний, пишеться заголовок з двокрапкою “**КЛЮЧОВІ СЛОВА:**”. Тексти рефератів і ключові слова мають ширину на 1 см меншу, ніж основний текст (по 0,5 см з кожного боку). Реферати розділяються одним пустим рядком.

Основний текст статті наводиться після пропуску одного рядка шрифтом Times New Roman (Cyr), 12 pt. Абзаци починаються з червоного рядка (0,75 см). Рекомендується розбиття статті на такі розділи: вступ (назва розділу не пишеться), **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** (обов'язково для експериментальних робіт), **РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ, ВИСНОВКИ**. Для теоретичних робіт передбачається більш вільне розташування матеріалу, наприклад, замість розділу **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** рекомендуються розділи **ПОСТАНОВКА ЗАДАЧІ, МОДЕЛЬ** та ін. Розділи не нумеруються, літери великі, напівжирні, вирівнювання по центру. При необхідності розділи поділяються на підрозділи. Назви підрозділів пишуться з великої літери і виділяються напівжирним шрифтом, вирівнювання по центру. Розділи або підрозділи розділяються одним пустим рядком. Після назв розділів і підрозділів крапка не ставиться. У кінці тексту статті після пропуску одного рядка у розділі **ПОДЯКА** зазначається назва фонду, який фінансував роботу, і номер гранту. Потім розміщується розділ **КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ**, у якому автори декларують наявність фінансових або інших конфліктів інтересів, які могли вплинути на результати, інтерпретацію та висновки дослідження. Якщо немає конфлікту інтересів, так і потрібно заявити: "Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів". Потім розміщується розділ **Authors' ORCID ID**, у якому автори вказують адреси своїх профілів ORCID.

Літературні посилання нумеруються в порядку цитування в тексті, номер посилання пишеться у квадратних дужках. Не допускаються посилання на неопубліковані роботи, підручники та навчальні посібники. Список літератури (шрифт 10 pt.) розміщується за основним текстом статті, виділяється як розділ **REFERENCES** і оформлюється згідно з міжнародним стилем оформлення списку наукових публікацій **Vancouver**. Приклади оформлення бібліографічних посилань можна подивитись на сайті журналу у розділі «Керівництво для авторів»: <https://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk/about/submissions>.

Рукописи оформлені не у відповідності до наведених правил не розглядатимуться!

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Electronic files of the contributions (created in MS Word 2007 and later versions) written in English or Ukrainian, scans of the expert inference directive and directive from the author's institution should be sent to the Editorial Office online via the website <http://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk>.

A manuscript should be typed in single spacing on A4 paper. Use the MS Word with following options: 12 points Times New Roman font, text justified. Left and right margins should be 2.5 cm, the upper margin should be 3.5 cm, and bottom one should be 2 cm. Mathematical and chemical symbols, equations, and formulae should be inserted in the text by computer means (MathType or Microsoft Equation). Figures should be computer-generated in software packages intended for processing and visualization of scientific data: Origin, Mathcad, etc. The use of the MS Office Excel is not recommended. Use computer printed symbols for axes labeling. Insert prepared images into an MS Word file as files in *.emf, *.wmf, *.jpg, *.jpeg, *.png format within the area of the page specified above. We recommend the following layout: images are placed in the first row of the table with transparent outer borders, legends and comments to figures are placed in the second row of the table. The font size of figure legends should be 9 points. Formulae, tables, figures should be numbered consecutively using Arabic numerals, e.g. (1), Table 1, Fig 1. If the article is written in Ukrainian, captions to figures and tables are duplicated in English.

Insert UDK in the first line on the left of a first page (11 pt, Italic). Leave one line blank. Place the title of the paper in capital letters (12 pt, bold, centered) on the next line. After one blank line type initials and surnames of the authors (12 pt, bold, centered). On the next line type the authors' affiliation and postal addresses of the institution where the actual work was done, including an e-mail address of the corresponding author (10 pt, Italic, centered). Then, place the date of the paper submission: day — in numbers, month — in words, year — in numbers (straight font, 10 pt, centered). Then, place the date of the paper submission (to be filled by editor).

After one blank line place three abstracts of the paper (written in Ukrainian, Russian and English). The first abstract should be written in the language of the manuscript. On the next line provide second, and then on the next line — third abstracts (capital letters, straight font, 10 pt, bold, centered). Above the second and third abstracts place the titles of the paper in two languages (capital letters, straight font, 10 pt, bold, centered), then — initials and surnames of the authors (straight font, 10 pt, bold, centered), and finally — the authors' affiliation names and addresses (9 pt, Italic, centered), every time starting from a new line. The abstract should be structured and consist of the following parts with headings: **Background, Objectives, Materials and Methods, Results, Conclusions**, each placed on a new line. The words "Резюме" and "Abstract" should be omitted. The headers of structural parts are written in bold letters, putting a dot after the header. All the three abstracts of the paper should contain not less than 1,800 and not more than 2,000 phonetic symbols (i.e., without taking into account the spacing between words); straight font, 10 pt. On the next line type 5-8 key words, separated by a semicolon (10 pt — first abstract, 9 pt — second and third abstracts). Next, the header "**KEY WORDS:**" should be typed in bold capital letters at the beginning of the line. The texts of the abstracts and key words should be indented 0.5 cm from the left and right margins. The abstracts should be separated by a blank line.

Then, leave one blank line before starting to type the text of the paper with following options: Times New Roman font, 12 pt, text justified. The first line of each paragraph should be indented 0.75 cm from the left margin. Each manuscript should contain the following elements: an introduction (heading of this section should be omitted), **MATERIALS AND METHODS** (obligatory for experimental studies), **RESULTS AND DISCUSSION**, **CONCLUSIONS**. For theoretical less specified text organization is envisaged, e.g., instead of section **MATERIALS AND METHODS**, the sections **PROBLEM FORMULATION** or **MODEL** are recommended, etc. The sections are not numbered, capital letters, bold, centered. Sections may be subdivided into subsections, if necessary. Subsection Headings are centered and should be bold and capitalized. Leave one blank line after each section or subsection. A dot should be omitted after headings of sections and subsections. Names of the foundations and grant numbers should be included in the section **ACKNOWLEDGMENTS** at the end of the text after one blank line. The next section should be **CONFLICT OF INTEREST** in which you should declare financial or any other conflict of interest. If there is no conflict of interest you can state: "The authors declare that there is no conflict of interest." The next section should be **Authors' ORCID ID** in which you should include ORCID internet addresses of all authors.

References to the literature should be cited in the text consecutively by Arabic numerals in square brackets. The citation of unpublished papers, textbooks and tutorials are prohibited. List of references (10 pt) should be given at the end of the manuscript as a separate section **REFERENCES**, formatted according to the **Vancouver** style for scientific publications.

The examples for reference formats are given on the journal's website in the "Author Guidelines": <https://periodicals.karazin.ua/biophysvisnyk/about/submissions>.

Manuscripts that do not meet the requirement mentioned above will not be considered for publication!

Наукове видання

“Біофізичний вісник”

Вип. 45

Збірник наукових праць

Укр. та англ. мовами.

Комп'ютерне верстання к.ф.-м.н. Горобченко О. О.

Підписано до друку 01.07.2021. Формат 60×84 1/8.
Папір офсетний. Друк ризографічний.
Ум. друк. арк. 3,96. Обл.-вид. арк. 4,61. Наклад 50 пр.

61022, Харків, майдан Свободи, 4
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Надруковано: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна
61022, Харків, майдан Свободи, 4, тел. +38-057-705-24-32
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3367 від 13.01.09