

УДК 539.1.047

## ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОМЕХАНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ ПРИ РАДИАЦИОННОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ<sup>#</sup>

© 2019 г. В. В. Розанов<sup>1, 2, \*</sup>, И. В. Матвейчук<sup>2</sup>, А. П. Черняев<sup>1</sup>, Н. А. Николаева<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова”, Москва, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений”, Москва, Россия

<sup>3</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования “Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова”, Якутск, Россия

\*E-mail: vrozanov@mail.ru

Поступила в редакцию 01.10.2018 г.

После доработки 15.10.2018 г.

Принята к публикации 19.11.2018 г.

Радиационная стерилизация костных имплантатов может приводить к существенным морфологическим изменениям, снижению физико-механических показателей в зависимости от величины дозы поглощения. Структура костных образцов претерпевает изменения, начиная с дозы в 15 кГр. Увеличение дозы до 25–50 кГр отражается на механических характеристиках и остеиндуктивных свойствах костных имплантатов. Наличие данных о морфомеханических изменениях, их анализ и систематизация являются научной основой для выработки современных требований и практических рекомендаций для дальнейшего совершенствования радиационных технологий стерилизации биологических тканей.

DOI: 10.1134/S0367676519040203

### ВВЕДЕНИЕ

Потребность в пластическом материале при оперативных вмешательствах по восстановлению структуры и функции пораженных или утраченных костных фрагментов постоянно повышается. В последние десятилетия значительно увеличился объем реконструктивно-восстановительных операций в травматологии, ортопедии, челюстно-лицевой хирургии ввиду возрастания случаев травматизма, числа пострадавших в локальных военных конфликтах, ухудшения экологии. К примеру, только в США за период с 1992 по 2002 г. количество пересаженных аллогенных костных трансплантатов выросло с 200 до 800 тыс. Такая ситуация характерна и для ряда других развитых стран, что свидетельствует о реальной потребности в аллогенных костных трансплантатах, исчисляемой на сегодняшний день миллионами в год.

Костные аллотрансплантаты успешно используются в реконструктивной хирургии для решения различных клинических задач в качестве аль-

тернативы аутокости, которой свойственны ряд важных преимуществ с точки зрения биосовместимости, регенеративной способности. Однако, ее получение связано с неизбежной травматизацией пациента, ограниченным количеством доступного пластического материала. Применение аллотканей позволяет устранить указанные негативные факторы, но не исключает при этом необходимость решения актуальных задач — обеспечения биорезистентности и стерильности пластического материала. В этой связи вопросы безопасности имеют первостепенное значение для решения задач биоимплантологии.

Контаминацию исходного пластического материала устранить полностью невозможно. Она может быть обусловлена как наличием инфекции у донора, так и загрязнением костных фрагментов при их заготовке и обработке в процессе получения будущего имплантата. Поэтому важно учитывать многие аспекты — от выбора донора до эффективной стерилизации не только конечного продукта на заключительном этапе его изготовления, но и на начальной стадии заготовки. Указанные факторы должны неукоснительно приниматься во внимание. Это позволит обеспечить безопасность реципиента, персонала тканевых банков, непосредственно контактирующего с костными

<sup>#</sup> Статья подготовлена по материалам доклада, представленного на 68-ой Международной конференции по ядерной спектроскопии и структуре атомного ядра “Фундаментальные проблемы ядерной физики, атомной энергетики и ядерных технологий” (ЯДРО-2018).

фрагментами на всех технологических этапах, а также медицинских специалистов, выполняющих реконструктивно-восстановительные операции.

Среди методик стерилизации биоимплантатов следует, в первую очередь, выделить химическую обработку газообразной окисью этилена [1, 2]. Такой способ в течение длительного периода был признан одним из эффективных и широко использовали в отечественных тканевых банках. Ряд авторов считали методику предпочтительной с точки зрения отсутствия изменений остеиндуктивных свойств трансплантатов. В то же время было обращено внимание на увеличение продолжительности резорбции таких трансплантатов при использовании в костной пластике. Другие исследователи неоднократно подчеркивали высокую токсичность оксида этилена, его канцерогенные свойства, возможность проявления мутагенных эффектов у растений, бактерий и лабораторных животных [3, 4].

Существует широкий спектр методик стерилизации, основанных на применении жидких химических реагентов, паров перекиси водорода, низкотемпературной плазмы, газообразной озono-кислородной смеси, микроволнового, ультрафиолетового облучений, криовоздействия, термообработки и др. [5–9]. Однако в настоящее время все большее распространение находит метод радиационной стерилизации [10–12]. Его отличает высокая проникающая способность, эффективность стерилизующего воздействия, отсутствие заметного нагрева образцов, что имеет важное значение для биотканей. Костные фрагменты можно обрабатывать непосредственно в герметичной упаковке, что предотвращает их вторичное инфицирование.

Вместе с тем при использовании этого метода стерилизации существует реальная возможность негативных последствий от воздействия на стерилизуемый объект, сопровождающихся различной степенью изменений механических характеристик и остеиндуктивного потенциала биоимплантата. Механические показатели особенно важны на этапе, когда еще не завершена резорбция костного имплантата, а его остеиндуктивный потенциал определяет процесс регенерации в области костной пластики. Результаты исследований изменения этих характеристик при действии радиации имеют фундаментальное значение, так как служат источником информации о механизмах и последствиях радиационного воздействия на биологические ткани в широком диапазоне значений дозы поглощения. Наличие таких данных, их анализ и систематизация являются научной основой для выработки современных требований и практических рекомендаций для дальнейшего совершенствования радиационных технологий стерилизации биологических тканей.

В анализируемых работах в качестве экспериментального материала при выполнении лабораторных исследований *in vitro* и *in vivo* использовали аллоткани человека (сухожилия, крестообразные связки, компактная и спонгиозная кость и др.), а также ксеноматериалы (компактная и спонгиозная кость быка) с учетом возрастных и половых особенностей. Изменения физико-механических свойств биоимплантатов регистрировали после радиационного воздействия. Облучение проводили как потоками гамма-квантов от радиоактивных источников, так и быстрых электронов на ускорителях в диапазоне изменения величины дозы поглощения от единиц до нескольких десятков кГр. Механические испытания проводили по общепринятым методикам с использованием испытательного комплекса “Инстрон”. Измерения микротвердости поверхностного слоя костных образцов осуществляли с применением как отечественных микротвердомеров фирмы ЛОМО, так и зарубежных – DM-8 (Италия).

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Эффективность стерилизации в процессе радиационного воздействия имеет прямую зависимость от величины дозы поглощения. В тканевых банках ряда стран в качестве “базовой” величины принята доза поглощения 25 кГр. Она указана и в рекомендациях МАГАТЭ. Считается, что такая доза обеспечивает требуемую степень стерильности имплантатов, хотя отдельные тканевые банки используют более высокие значения – до 35 кГр и выше для предотвращения заражения вирусом ВИЧ. Однако существует точка зрения ряда авторов, согласно которой для надежной защиты от него требуются более высокие дозы – до 50 кГр. Вместе с тем исследования показывают, что радиационное воздействие с меньшими дозами способно изменить некоторые характеристики биоимплантатов [13, 14]. Для костных имплантатов речь идет о границе в 15 кГр. Это значение указывается в качестве минимальной стерилизующей дозы для достижения бактериальной безопасности соединительнотканых трансплантатов и на основании серии бактериологических экспериментов некоторых исследователей [13, 15]. Подобранный вывод о пороговой величине дозы поглощения в 15 кГр сделан в ряде известных независимых исследований [11, 13, 16, 17], хотя имеется мнение [18], что и радиационное воздействие с дозой поглощения в 11 кГр может в ряде случаев обеспечить достаточную степень стерилизации костных имплантатов.

Необходимо отметить, что даже низкие радиационные воздействия на живой организм, как показано в цикле исследований Т.К. Осипенковой [19], могут обусловить серьезные последствия для биологических тканей *in vivo*. Анализ гистологи-

ческих препаратов свидетельствует о появлении первоначальных структурных изменений уже при дозе 9.6 Гр. В качестве других морфологических признаков радиационной травмы минерализованных биологических тканей отмечена редификация костных структур с формированием микромозолей и микропереломов, а также грыж Шморля в позвонках. Имело место нарушение микроциркуляции в тканях, что сопровождалось разволокнением сосудистой стенки, набуханием эндотелия, усиленным рассасыванием костных структур. С увеличением дозы остеокластическая резорбция уступала место пазушному рассасыванию. Дозы, превышающие 30 Гр, вызывали изменения в остеобластах, остеоцитах, хондроцитах, а также в клетках костного мозга, сосудах и стромах тканей.

Еще более значительные изменения происходят при возрастании дозы до 80 Гр. В этих случаях, как непосредственно после облучения, так и в течение последующих (2–3) лет, отмечалось существенное преобладание явлений разрушения над восстановительными процессами. При этом особенно сильные изменения отмечены в структуре хрящевой ткани. Выявленные морфологические изменения тканей [19] обусловили существенные функциональные нарушения. Подтверждением их является значительный рост микро- и макропереломов при незначительных внешних механических воздействиях (на уровне физиологических нагрузок) и даже спонтанных. Эти явления дополняются развитием таких патологий, как сколиозы, остеохондрозы, деформирующие артрозы. Следует акцентировать внимание, что указанные изменения происходят при радиационном воздействии *in vivo* и проявляются в динамике через различные временные промежутки (от дней до нескольких лет).

В результате радиационного воздействия морфологические изменения проявляются не только в виде выраженной разреженности, отсутствия остеоцитов в костных лакунах, появлении микропереломов костных балок, но и в формировании в дальнейшем микромозолей из грубоволокнистых костных структур, соединяющих сломанные костные балки. Некоторые из них не содержат остеоциты и отличаются высокой хрупкостью. При больших (70–80) Гр лучевых нагрузках в очаговых зонах регенерация костной и хрящевой тканей происходит медленно. Изменения в костной ткани могут наблюдаться даже в тех случаях, когда облучению подвергались совершенно другие участки скелета, ткани и органы [19].

При стерилизации биоимплантатов радиационное воздействие происходит *in vitro* и характеризуется высокими значениями дозы поглощения.

Известно, что имплантат выполняет роль матрицы, заполняющей костный дефект. По мере рассасывания он замещается нативной костной

тканью, поэтому его остеиндуктивные свойства во многом определяют эффективность операционного вмешательства.

При радиационном воздействии с высокой дозой поглощения может происходить разрушение морфогенетических белков, в результате чего остеиндуктивный потенциал трансплантата может быть ослаблен, либо вообще сведен к нулю. При высоких дозах ионизирующего облучения (выше 50 кГр) возникающие физические и химические изменения существенно влияют на биологические свойства тканевых аллотрансплантатов. Наряду с остеиндуктивной способностью костной ткани может изменяться и скорость резорбции трансплантата *in vivo* [11].

Результатом происходящих структурно-функциональных изменений является снижение механических показателей образцов [11, 13, 14, 17]. Степень выраженности таких изменений зависит от величины определяющего параметра – дозы. Так, при низких ее значениях (до 5 кГр) не отмечено существенных нарушений структуры и функции тканей. По мере возрастания дозы, начиная с 15 кГр, отмечены изменения структуры коллагеновых волокон, включая их набухание и разволокнение. Это неизбежно приводит к снижению механической прочности тканей. При дальнейшем повышении дозы в пределах 25–50 кГр прочность при испытании на изгиб может снижаться почти на треть. Изменение жесткости, удлинения образцов выражены в меньшей степени, хотя для таких трансплантатов, как передняя крестообразная связка, это может иметь критическое значение.

В зависимости от видов механических испытаний изменение прочности образцов является дозозависимым. Так, в условиях испытаний на изгиб [20] прочность образцов при величине дозы 17 кГр снижается на 11%, при 30 кГр – на 22%, а при 65 кГр – на 65%. При испытаниях на сжатие уменьшение прочности при дозе 28 кГр составляет 35% [21], а при растяжении – 10% при дозе 35 кГр [22].

Анализ механических характеристик образцов минерализованных биологических тканей после радиационной обработки с шагом в 5 кГр в диапазоне до 25 кГр [16] свидетельствует о существенном уменьшении предела прочности и относительной деформации (вплоть до 25%) вблизи граничной зоны упругих деформаций, зоны текучести и разрушения. При этом наименьшие изменения отмечены для модуля упругости, а наибольшие – для модуля вязкости (данные приведены в табл. 1).

Все эти исследования относятся к компактно-му веществу костной ткани. Спонгиозное также подвергается существенным изменениям, механизм которых, в частности, может быть связан с зарегистрированными локальными микроразру-

**Таблица 1.** Механические характеристики компактных костей после гамма-облучения [16]

Доза, кГр	$\sigma_y$ , МПа	$\epsilon_y$ , %	$E$ , ГПа	$\sigma_f$ , МПа	$\epsilon_f$ , %
0	$93 \pm 1.17$	$0.87 \pm 0.01$	$10.76 \pm 0.23$	$166 \pm 3.22$	$2.74 \pm 0.08$
5	$89 \pm 0.87$	$0.84 \pm 0.01$	$10.71 \pm 0.18$	$158 \pm 2.83$	$2.72 \pm 0.07$
10	$89 \pm 0.78$	$0.83 \pm 0.01$	$10.85 \pm 0.20$	$157 \pm 2.55$	$2.45 \pm 0.06$
15	$91 \pm 1.17$	$0.82 \pm 0.01$	$11.24 \pm 0.19$	$162 \pm 3.18$	$2.43 \pm 0.07$
20	$88 \pm 0.89$	$0.80 \pm 0.01$	$10.92 \pm 0.20$	$156 \pm 3.30$	$2.26 \pm 0.06$
25	$87 \pm 1.89$	$0.80 \pm 0.02$	$10.88 \pm 0.25$	$155 \pm 2.97$	$2.24 \pm 0.05$

$\sigma_y$  – напряжение текучести,  $\epsilon_y$  – деформация текучести,  $E$  – модуль упругости,  $\sigma_f$  – напряжение разрушения,  $\epsilon_f$  – деформация разрушения.

шениями трабекул [16]. По мере их накопления трещины начинают быстро распространяться и приводят в результате к необратимому макромасштабному разрушению трабекул.

Наряду с изменением механических характеристик в объеме костных имплантатов важную роль играет состояние поверхностного слоя костного образца. Именно он вступает в непосредственный контакт с костным ложем при проведении костной пластики и замещении костных дефектов. В то же время влияние структурно-функционального состояния поверхностного слоя на эффективность процесса регенерации нативной костной ткани на сегодня практически не изучено [23]. Результаты многолетних исследований авторов [24–27] позволяют утверждать, что получение костных имплантатов с высоким качеством поверхности (на макро- и микроуровнях [28]) может быть достигнуто с использованием адаптированных инновационных технологий физико-механической обработки костных фрагментов, в том числе в условиях тканевого банка [29]. При этом упруго-пластические свойства поверхностного слоя (показатель микротвердости) не претерпевает существенных изменений по сравнению с исходными значениями при последующей радиационной стерилизации вплоть до 27 кГр.

Заслуживает внимания появление в последние годы инновационных технологий радиопротекторной защиты биообразцов от ионизирующего воздействия [30, 31], позволяющих сохранить прочностные свойства костных фрагментов при облучении с использованием высоких доз.

Обобщая приведенные выше данные, можно заключить, что наблюдаемые в костных имплантатах физико-механические и морфологические изменения являются результатом процесса радиационной стерилизации, начиная с дозы поглощения 15 кГр. Результаты этих исследований имеют фундаментальное и прикладное значение, так как расширяют существующую и предоставляют новую информацию о механизмах и последствиях радиационного воздействия на биологические ткани. Вместе с тем анализ и систематизация

этих данных позволяет выработать требования, сформулировать рекомендации по развитию и совершенствованию радиационных технологий стерилизации биоимплантатов. При этом в качестве основного условия следует рассматривать необходимость обеспечения эффективности стерилизации при максимально возможном снижении дозовой нагрузки, сохраняющей морфологические и биофизические свойства, остеиндуктивный потенциал костных имплантатов. К таким новым перспективным технологиям относятся, в частности, комбинированные методики на основе синергетического эффекта сочетанного воздействия различных стерилизующих факторов [32, 33].

В серии работ [34–37], выполненных в 1950–1970 годы, показано, что эффективность радиационного воздействия на патогенные микроорганизмы зависит от целого ряда факторов – присутствия кислорода, содержания воды, температурных режимов, состава и свойств среды, вида патогенов, наличия вегетативных форм или спор, влияния радиопротекторов и др., которые в значительной степени определяют их радиорезистентность. Важную роль при этом играет численность популяции патогенов. Чем она меньше, тем слабее популяция и ниже ее радиорезистентность. Именно это обстоятельство определяет эффективность и синергизм комбинированных методик, когда на первом этапе осуществляется значительное ослабление (уменьшение численности) популяции патогенных микроорганизмов за счет, например, химического воздействия, и таким образом снижается их радиорезистентность. В результате на втором этапе процесса стерилизации их эффективное уничтожение радиационным воздействием оказывается возможным при существенно меньших дозах поглощения.

Так, в работе [32] на первом этапе костные имплантаты выдерживали в течение суток при  $+5...+7^\circ\text{C}$  в водном растворе, содержащем этанол, димексид и тимол при определенном соотношении компонентов. Затем на втором этапе, после тщательного высушивания и вымораживания, производили обработку потоком гамма-

квантов. Эффективная стерилизация при этом была получена при величине дозы 12 кГр. Однако это технологическое решение имело ряд недостатков: длительность процесса (как на первом, так и на втором этапах), необходимость тщательного высушивания и вымораживания образцов, связанная с возможными нежелательными процессами гидролиза при радиационном воздействии на влажную кость. Практически — это дополнительная лиофилизация, которая, как известно [17, 19], приводит (в дополнение к радиационному воздействию) к изменениям в структуре коллагена.

Заслуживает внимания предложенная и экспериментально апробированная авторами [33, 38] технология, включающая обработку костных имплантатов на первом этапе озono-кислородной смесью и позволяющая решать одновременно ряд важных задач. Во-первых, озон (даже в малых концентрациях) эффективен для подавления любых патогенов. Все виды грамм-положительных и грамм-отрицательных бактерий (в том числе легионелла и синегнойная палочка), все липо- и гидрофильные вирусы (включая вирусы гепатитов А, В и С), вегетативные и споровые формы патогенных грибов и простейших эффективно уничтожаются озоном [39]. При этом крайне важным является тот факт, что при озоновом воздействии возможно эффективное уничтожение споровых форм, в то время как при чисто радиационном воздействии споры часто оказываются весьма устойчивыми [34]. Озоновое же воздействие при концентрациях озono-кислородной смеси от 1 до 5 мг · л<sup>-1</sup> в течение 4–20 мин приводит к практически полной (до 99.9%) гибели *E.coli*, *Varavium*, *Cryptosporidium parvum*, *Streptococcus faelalis*, *Micobacterium tuberculosis* и др. [40]. Во-вторых, продолжительность первого этапа обработки сокращается от одних суток до 10–20 мин и не приводит к увлажнению образцов, что исключает необходимость дополнительного этапа лиофилизации. В-третьих, при обработке озono-кислородной смесью костные образцы помещаются в герметизируемые по завершении озонного воздействия пластиковые пакеты, простерилизованные той же озono-кислородной смесью, что исключает их повторное обсеменение до и после радиационной обработки. Все это в совокупности позволяет на втором этапе получить необходимый стерилизационный эффект от воздействия потоком быстрых электронов уже при дозах в 11 кГр [41]. Достигнутый результат позволил существенно продвигаться в направлении дальнейшего совершенствования радиационных технологий стерилизации биоимплантатов, повышения их эффективности и безопасности. Вместе с тем установленная возможность достижения эффективной стерилизации костных имплантатов при таком значении дозы поглощения открывает перспективу

использования в радиационных технологиях и рентгеновского излучения наряду с гамма-квантами и пучками быстрых электронов [42, 43].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При совершенствовании существующих, создании и внедрении инновационных технологий стерилизации особый интерес представляют не только их эффективность и технологичность, но и исследования механизмов происходящих изменений. Результатом их может быть нарушение структуры, снижение физико-механических параметров биологических тканей, остеиндуктивного потенциала, что в совокупности определяет качество биоимплантатов. Практическим результатом подобных разработок должны стать рекомендации, служащие основой для инновационных технологических решений и создание новых высокоэффективных, безопасных технологий радиационной стерилизации биоимплантатов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Danielson N.E.* The use of ethylene oxide in the hospital setting. Sterilization of medical products. Chicago: Johnson&Johnson, 1991. P. 194.
2. *Doherty M.J., Mollan R.A.B., Wilson D.J.* // *Biomaterials*. 1993. V. 14. № 10. P. 994.
3. *Russell J.L., Block J.E.* // *Orthopedics*. 1999. V. 22. № 5. P. 524.
4. *Dziedzic-Goclawska A.* // *Mat. 2 World Congress on Tissue Banking "Allograft against disability"*. (Warsaw, 1999). P. 48.
5. *Le Huec J.C.* // *Chirurgie*. 1992. V. 118. № 6–7. P. 397.
6. *Draenert G.F., Delius M.* // *Biomaterials*. 2007. V. 28. № 8. P. 1531.
7. *Uchiyama K., Ujihira M., Mabuchi K. et al.* // *J. Orthop. Sci*. 2005. V. 10. P. 77.
8. *Пантелеев В.И., Розанов В.В., Матвейчук И.В. и др.* // *Биомед. радиоэлектроника*. 2013. № 2. С. 3.
9. *Быков В.А., Розанов В.В., Матвейчук И.В. и др.* Способ изготовления костных имплантатов. Пат. РФ № 2526429, кл. А61F 2/00. 2014.
10. *Dziedzic-Goclawska A., Kaminski A., Uhrynowska-Tyszkiewicz I., Stachowicz W.* // *Cell Tissue Bank*. 2005. № 8. P. 201.
11. *Singh R., Singh D., Singh A.* // *World J. Radiol*. 2016. V. 8. № 4. P. 355.
12. *Trends in radiation sterilization of health care products*. Vienna: Intern. Atomic Energy Agency, 2008. 261 p.
13. *Шангина О.Р., Нугматуллин Р.Т.* // *Морфология*. 2006. Т. 129. С. 44.
14. *Voggenreiter G., Ascherl R., Scherer M.A. et al.* // *J. Biomech*. 1991. V. 24. Iss. 6. P. 458.
15. *Шангина О.Р.* // *Технологии живых систем*. 2006. Т. 3. № 2. С. 58.
16. *Nguyen H., Cassady A.I., Bennett M.B. et al.* // *Bone*. 2013. № 57. P. 194.

17. Шангина О.Р. // Морфология. 2006. Т. 129. № 4. С. 139.
18. Nguyen H., Morgan D.A.F., Forwood M.R. // J. Arthroplasty. 2011. V. 26. № 2. P. 303.
19. Осипенкова-Вичтомова Т.К. Судебно-гистологическая экспертиза костей. М.: БИНОМ, 2017. 272 с.
20. Currey J.D., Foreman J., Laketic I. et al. // J. Orthop. Res. 1997. № 15. P. 111.
21. Hamer A.J., Strachan J.R., Black M.M. et al. // J. Bone Joint Surg. 1996. № 78. P. 363.
22. Akkus O., Belaney R.M. // J. Orthop. Res. 2005. № 23. P. 1054.
23. Матвейчук И.В., Литвинов Ю.Ю., Розанов В.В. // Морфология. 2016. Т. 149. № 3. С. 134.
24. Розанов В.В., Сысоев Н.Н. // Международный медицинский журнал. 2000. № 4. С. 362.
25. Розанов В.В., Денисов-Никольский Ю.И., Матвейчук И.В. и др. // Технологии живых систем. 2005. Т. 2. № 4–5. С. 28.
26. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Денисов-Никольский Ю.И. и др. // Технологии живых систем. 2016. Т. 12. № 1. С. 25.
27. Матвейчук И.В., Розанов В.В., Литвинов Ю.Ю. // Альманах клинической медицины. 2016. Т. 44. № 2. С. 193.
28. Осипенкова Т.К., Розанов В.В., Денисов-Никольский Ю.И. и др. // “Остеопороз и остеопатии” Прилож. к научно-практическому медицинскому журналу. 2010. № 1. С. 29
29. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Денисов-Никольский Ю.И. // Биомедицинские технологии. ВИЛАР. 2006. Т. 24. С. 200.
30. Seto A.U., Culp B.M., Gatt C.J. et al. // Cell Tissue Bank. 2013. № 14. P. 655.
31. Draenert K.D. // Clin. Orthop. Rel. Res. 2015. V. 474. № 3. P. 836.
32. Савельев В.И., Будатов А.А., Рыков Ю.А. Комбинированный способ стерилизации костных трансплантатов. Пат. РФ № 2356224, кл. А01N 1/02, А61F 2/28, А61L 27/00. 2007.
33. Литвинов Ю.Ю., Быков В.А., Сидельников Н.И. и др. Способ получения костного имплантата на основе стерильного деминерализованного костного матрикса. Патент РФ № 2630464, кл. А61F 2/28. 2018.
34. Transy M.J., Fleurette J. // Revue D'Epidemiologie Medecine Sociale et Sante Publique. 1976. V. 24. № 2. P. 165.
35. Kohn H.I., Gunter S.E. // Rad. Res. 1955. V. 2. № 4. P. 351.
36. Gunter S.E., Kohn H.I., Tyree E.B. et al. // Rad. Res. 1956. V. 4. № 4. P. 326.
37. Kohn H.I., Gunter S.E. // Rad. Res. 1959. V. 11. № 5. P. 732.
38. Алшмов А.С., Близнюк У.А., Борщegovская П.Ю. и др. // Изв. РАН Сер. физ. 2017. Т. 81. № 6. С. 819.; Alitov A.S., Bliznyuk U.A., Borchegovskaya P.U. et al. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2017. V. 81. № 6. P. 743.
39. Carpendale M.T., Griffis J. // Ozon in Medicine. Proc. Eleventh Ozone World Congr. (San Francisco, 1993). P. 1.
40. Масленников О.В., Конторщикова К.Н., Шахов Б.Е. Руководство по озонотерапии. Н. Новгород: Исток, 2015. 346 с.
41. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Черняев А.П. и др. // Технологии живых систем. 2018. Т. 15. № 1. С. 41.
42. Tallentire A., Miller A. // Rad. Phys. Chem. 2015. V. 107. P. 128.
43. Близнюк У.А., Авдюхина В.М., Борщegovская П.Ю. и др. // Изв. РАН Сер. физ. 2018. Т. 82. № 6. С. 824; Bliznyuk U.A., Avdyukhina V.M., Borchegovskaya P.U. et al. // Bull. Russ. Acad. Sci. Phys. 2018. V. 82. № 6. P. 740.