

DOI: 10.15593/RZhBiomeh/2016.1.01
УДК 539.2/.6+612.76+519.68: [5/6+3]



**Российский
Журнал
Биомеханики**
www.biomech.ru

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИЗИКО-МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БИОМАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ДАННЫХ НАНОИНДЕНТИРОВАНИЯ И МОДЕЛЕЙ ДРОБНОГО ПОРЯДКА

М.А. Журавков, Н.С. Романова

Кафедра теоретической и прикладной механики Белорусского государственного университета, Республика Беларусь, 220030, Минск, проспект Независимости, 4, e-mail: zhuravkov@bsu.by, romanovans@bsu.by

Аннотация. Изложены результаты теоретических и прикладных исследований, посвященных актуальной проблеме разработки высокоэффективных аналитико-экспериментальных методов для оценки физико-механических свойств биоматериалов и биоструктур на основе технологий наноиндентирования и атомно-силовой микроскопии. Представлен анализ реализации ряда механико-математических моделей, построенных для решения таких сложных проблем, как задача выбора/построения механико-математической модели, максимально приближенной к описанию естественного состояния рассматриваемой гетерогенной среды, задача, связанная с определением момента непосредственного контакта внедряемого индентора в объект и учет в методиках оценки физико-механических свойств биоструктур сил, проявляющихся на наномасштабном уровне (сил адгезии и др.). Предложены различные модификации упругих решений контактной механики, включая модели, построенные на основе интегродифференцирования дробного порядка. Результаты клинических испытаний содержат результаты исследования гемореологических модификаций, вызванных изменением физико-механических характеристик эритроцитов под влиянием ишемической болезни сердца, острого коронарного синдрома, и эффективности включения в комплексную терапию пациентов с острым коронарным синдромом ультрафиолетовой модификации крови и экстракорпоральной аутогемамагнитотерапии в основе технологий наноиндентирования и методологии обработки данных, полученных в данной работе.

Ключевые слова: физико-механические свойства эритроцитов, модели вязкоупругости дробного порядка, модифицированный алгоритм Крика, острый коронарный синдром.

ВВЕДЕНИЕ

Физико-механические свойства биоматериалов являются их важными фундаментальными характеристиками. Изучение механических эффективных свойств биоматериалов не только позволяет получить новые знания об их функционировании и жизнедеятельности, но и представляет несомненный клинический интерес.

Очевидно, что точно оценить физико-механические свойства биоматериалов, в частности клеток, не представляется возможным [38]. При оценке механических параметров биологической клетки можно говорить лишь о «вилке» (интервале), в котором находится тот или иной параметр. Эти значения зависят от большого количества как внутренних, так и внешних факторов и параметров, в том числе имеющих и случайный характер.

Проблема разработки высокоэффективных аналитико-экспериментальных методов для оценки механических свойств биоматериалов и биоструктур является крайне актуальной, несмотря на то что на сегодня существует значительное количество подходов и технологий для изучения и оценки физико-механических свойств биоматериалов, каждый из которых имеет определенные ограничения и недостатки [8, 32, 35, 39, 41, 55, 57, 60, 66, 67, 76].

В настоящее время большую популярность приобрели методики определения механических свойств биоматериалов на основе технологий и подходов наноиндентирования [4, 16]. Сегодня уже сформировалась новая область исследований – нанобиомеханика, задачами которой является изучение механики биоматериалов и биоструктур на клеточном уровне, в том числе и при различных патологиях и заболеваниях [40, 44, 46–48, 53, 56, 58, 59, 62–64, 75, 78, 82]. Одним из главных положительных факторов, стимулирующих появление этого направления исследований, является прогресс в развитии нанотехнологических инструментов, позволяющих механически «ощупывать» клетки и биомолекулы в их физиологическом состоянии с силой порядка от нескольких пико- до наноьютонов и разрешением порядка нанометра [2]. Проведение таких измерений ранее было невозможно.

Среди недавно созданных приборов и экспериментальных методов измерения, относящихся к данному классу инструментальных технологий, особое место занимает атомно-силовая микроскопия и разработанные на ее основе методы клеточной эластографии [6, 16, 21, 28, 50, 51].

Хотя уникальные возможности атомно-силовой микроскопии делают перспективным ее применение для изучения структуры и физико-механических свойств биоматериалов, вместе с тем изучение биологических объектов представляет собой все же более сложную задачу по сравнению с аналогичными исследованиями поверхностей твердых тел. Среди наиболее сложных проблем, проявляющихся при разработке технологий использования атомно-силовой микроскопии для биоструктур, можно выделить задачу выбора/построения механико-математических моделей, как описывающих процесс поведения системы «внедряемый индентор – исследуемая биоструктура», так и позволяющих выполнять интерпретацию результатов исследований и получать необходимую косвенную информацию на основании экспериментальных исследований. Не менее важной представляется и задача, связанная с определением момента непосредственного контакта внедряемого индентора в объект.

Анализ зависимостей приложенных к индентору сил от перемещения для биологических клеток показал наличие адгезионного взаимодействия острия зонда с поверхностью клетки при выходе острия из контакта. Причем действие внеконтактных сил адгезии в данном случае оказывается существенным. Поэтому актуальной проблемой является учет в методиках оценки физико-механических свойств биоструктур сил, проявляющихся на наномасштабном уровне (сил адгезии и др.) [33, 34].

Имеющиеся в литературе данные о механических свойствах клеток зачастую весьма противоречивы, что затрудняет количественный анализ и сравнение результатов исследований. Данное обстоятельство вызвано как раз трудностями, связанными с соблюдением условий единообразия измерений. Поэтому существует необходимость разработки общих методологических подходов применения методов атомно-силовой микроскопии, в частности процедуры статической силовой спектроскопии для измерения локальных упругих характеристик биоматериалов, т.е. развития теоретических и экспериментальных основ клеточной эластографии и ее приложений для анализа и идентификации нарушений на уровне отдельной клетки.

Для описания механического состояния и поведения биоматериалов и биоструктур необходимо в первую очередь записать систему разрешающих уравнений,

описывающих их состояние как объекта биомеханики. Данная система в качестве одного из определяющих факторов включает уравнения механического поведения биоматериалов. В качестве моделей, описывающих состояние биоматериалов, может быть выбрано значительное количество моделей поведения среды. Так, например, на сегодняшний день достаточно часто в качестве моделей, описывающих механическое поведение биоклеток, используются модели вязкоупругой деформируемой среды [10].

Как отмечается в работе [85], выполненные целым рядом ученых исследования показали, что классические вязкоупругие модели имеют пределы применимости с точки зрения адекватности и точности описания динамических явлений при различных временных масштабах и/или в случае широкого спектрального интервала. Достаточно четко это проявляется в случае с биологическими тканями и клетками. Одним из направлений обхода упомянутых здесь ограничений и погрешностей, касающихся стандартных механико-математических моделей, является использование в качестве базовых моделей поведения среды моделей дробного порядка [85]. В общем случае процессы ползучести и релаксации для реальных неоднородных сред являются нелинейными как в пространстве, так и во времени. Поэтому использование производных дробного порядка в уравнениях состояния вязкоупругих сред позволяет отобразить и учесть неоднородную структуру вязкого и упругого элементов и неоднородность механических процессов по времени.

С точки зрения механической интерпретации, процессы наноиндентирования и атомно-силовой микроскопии представляют собой задачи о контактном взаимодействии двух объектов и решение обратных задач механики по определению механических характеристик одного из взаимодействующих объектов. При моделировании процесса индентирования для описания механического поведения биологических тканей используются различные модели контактной механики, но наиболее часто все же применяются модели теории упругости при малых и при конечных деформациях. Однако следует отметить, что, несмотря на достижения в области приборостроения и развитие методов анализа, применение их для исследования мягких материалов по-прежнему затруднено в связи с весьма ограниченным количеством адаптированных для широкого практического использования нелинейных моделей контактной механики. Поэтому значимой проблемой, которую приходится решать при использовании как силовой спектроскопии, так и наноиндентирования, является выбор адекватной теоретической модели.

При построении математической модели важным представляется введение начальных допущений о взаимодействии индентора с исследуемым объектом (основанием). При этом индентор рассматривается как внешнее силовое воздействие на основание. В этом случае математическое решение эффективно строить, используя фундаментальные решения. Существенными обстоятельствами, которые влияют на выбор/построение механико-математической модели, являются введение допущений о деформировании собственно индентора и принятие определенного закона поведения изучаемого материала. Рассматриваемый класс задач можно разделить на несколько типов в соответствии с соотношением жесткости индентора и исследуемой структуры [11–13].

При интерпретации данных силовой спектроскопии на основе классических решений контактных задач (например, задачи Герца о контакте сферических тел) существенным ограничением для достижения точности и устойчивости измерений, особенно высокоэластичных материалов, является требование по обеспечению внедрения острия зонда в исследуемый материал на глубину, соизмеримую с радиусом острия индентора. Однако при исследовании покрытий нанометровой толщины, а также при оценке упругости мембран клеток выполнение данного условия не представляется возможным [31]. Кроме того, известно, что между острием зонда и

поверхностью клетки при выходе острия из контакта существуют силы адгезионного взаимодействия. Причем действие внеконтактных сил адгезии в данном случае оказывается существенным [1, 7, 49].

Вместе с тем, несмотря на различные подходы, до сих пор не существует теоретической модели, которая бы позволяла наиболее точно проводить расчет локального модуля упругости на основании данных силовой спектроскопии/наноиндентирования. Кроме того, использование различных расчетных моделей приводит к существенной вариабельности абсолютных значений модулей упругости клеток (значения для одинаковых клеток, полученные в схожих экспериментах, но рассчитанные с использованием разных моделей, могут отличаться друг от друга более чем на порядок [31]).

Поэтому вследствие того что в случае малых деформаций большинство биоматериалов можно считать подчиняющимися закону линейной упругости, модель контактного деформирования Герца по-прежнему чаще всего используется при анализе данных статической силовой спектроскопии и наноиндентирования, поскольку при этом не требуется подбора эмпирических параметров и для определения модуля упругости получаются простые выражения в явном виде.

Некоторые решения задачи контактного взаимодействия индентора произвольной формы поперечного сечения с упругим полупространством

Для рассматриваемого класса задач о наноиндентировании биоструктур важным является исследование воздействия площади индентирования непосредственно на область воздействия. Поэтому важным представляется получение решения, учитывающего точную конфигурацию нагрузки.

Очевидно, что в случае использования инденторов, имеющих формы оснований, отличные от круговой, решать контактные задачи сложнее [30, 31]. Так, задачи, в которых присутствуют твердые прямоугольные штампы, решаются главным образом с использованием разнообразных аппроксимирующих методов и подходов. Анализ литературных источников показывает, что контактные напряжения в краевых зонах под основанием прямоугольного штампа становятся сингулярными. Вместе с тем график изменения напряжений с удалением от штампа достаточно быстро приближается к профилю, который имеет место в случае воздействия нагрузки, действующей по круговому сечению.

Приведем информацию о некоторых решениях задачи контактного взаимодействия штампа с полупространством, которые используются в дальнейшем.

Решение задачи Герца о вдавлении абсолютно твердого шара радиусом R в упругое полупространство под воздействием сосредоточенной нагрузки P , линия действия которой проходит через центр шара перпендикулярно поверхности полупространства, можно записать следующим образом [5, 10, 23, 24]:

$$\begin{cases} w_0 = P^{\frac{2}{3}} \sqrt[3]{\frac{9}{16} \left(\frac{1-\mu^2}{E} \right)^2} \frac{1}{R}, \\ P = \frac{4E\sqrt{Rh^2}}{3(1-\mu)}, \\ a = P^{\frac{1}{3}} \sqrt[3]{\frac{3}{4} \left(\frac{1-\mu^2}{E} \right)} R. \end{cases} \quad (1)$$

Здесь глубина проникновения индентора в полупространство равна $w_0 = h$, радиус области контакта равен a , другие обозначения: модуль упругости материала полупространства E и коэффициент Пуассона μ .

При рассмотрении задачи наноиндентирования биологических тканей важными являются следующие характерные особенности модельного решения Герца: в модельной задаче рассматривается контакт тел из однородных изотропных материалов; индентор имеет сферическую форму; радиус области контакта намного меньше радиуса закругления индентора (т.е. глубина вдавливания – малая); внешнее давление на индентор представляет собой нормальное усилие к поверхности индентирования; глубина проникновения индентора намного меньше толщины образца.

В статье [74] представлено решение задачи о вдавливании в полупространство осесимметричного индентора с произвольной формой сечения, построенное с использованием преобразования Ханкеля (решение Снедана). Так, для глубины проникновения индентора в полупространство h получено следующее выражение:

$$h = \int_0^1 \frac{f'(x)}{\sqrt{1-x^2}} dx, \quad (2)$$

где $f(x)$ – функция, описывающая контур углубления, образующегося при внедрении индентора, при этом за начало координат берется острие индентора. Прогиб поверхности полупространства определяется выражением $w(r) = f(r/a)$.

Формула нахождения нагрузки, прикладываемой к индентору, имеет следующий вид:

$$P = \frac{2Ea}{1-\mu^2} \int_0^1 \frac{x^2 f'(x)}{\sqrt{1-x^2}} dx. \quad (3)$$

На основе решений (1)–(3) можно построить соответствующие решения для инденторов различной формы поверхности [11–13].

На практике распространенной является ситуация, когда индентор имеет конусоидальную форму со сферическим основанием (рис. 1).

В этом случае зависимость нагрузки от глубины проникновения индентора записывается в следующем виде [11–13]:

$$P = \frac{2E}{(1-\mu^2)} \left(\int_0^b \frac{h - \frac{r^2}{2R}}{\sqrt{a^2 - r^2}} r dr + \int_b^a \frac{h - (r-b) \operatorname{ctg}\theta - \frac{b^2}{2R}}{\sqrt{a^2 - r^2}} r dr \right) = \quad (4)$$

$$= \frac{2E}{(1-\mu^2)} \left(ah - \frac{a^2}{2 \operatorname{tg}\theta} \arccos\left(\frac{b}{a}\right) - \frac{a^3}{3R} + \left(\frac{b}{2 \operatorname{tg}\theta} + \frac{a^2 - b^2}{3R} \right) \right).$$

Радиус контактной зоны определяется из условия $\partial P / \partial a = 0$:

$$h + \frac{a}{R} \left(\sqrt{a^2 - b^2} - a \right) - \frac{a}{\operatorname{tg}\theta} \arccos\left(\frac{b}{a}\right) = 0. \quad (5)$$

Таким образом, воспользовавшись формулами (4) и (5), можно определить соотношение между нагрузкой и величиной углубления индентора в полупространство для случая индентора конусоидальной формы со сферическим основанием.

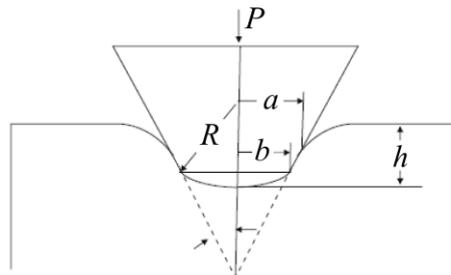


Рис. 1. Конусоидальный индентор со сферическим основанием

Использование для измерения механических и жесткостных параметров биоматериалов методик индентирования с индентором, имеющим сферически выпуклое основание, представляется более предпочтительным по сравнению с использованием индентора с плоским основанием.

Во-первых, в случае индентора со сферическим основанием ошибка, полученная в ситуации, когда удар/соприкосновение с поверхностью образца не является точно перпендикулярным, является намного меньшей, чем при использовании индентора с плоским основанием, так как во втором случае исследуемая поверхность соприкасается вначале лишь с одним концом индентора. Например, когда индентор со сферическим основанием соприкасается с поверхностью под углом 80° вместо 90° , то жесткостные параметры определяются с погрешностью меньшей, чем 2 %.

С другой стороны, погрешность расчетов в определении физико-механических характеристик в случае использования «сферического индентора» представляет собой функцию от глубины внедрения [70]. Поэтому представляется правомерным для практического применения использовать методики, ориентированные на использование инденторов как с плоским, так и сферическим основаниями.

Модификация классических упругих решений контактной механики с использованием математического аппарата интегродифференцирования дробного порядка

Как указывалось ранее, использование классических моделей линейной теории упругости для описания механического поведения биологических материалов представляется достаточно грубым приближением. Поведение биоматериалов в большей степени соответствует нелинейным соотношениям между компонентами напряженно-деформированного состояния и, кроме того, обладает ярко выраженными свойствами ползучести и релаксации. Во многих случаях вязкоупругое поведение биоматериалов хорошо описывается моделями с производными порядка « α », значение которого находится в интервале между 0 и 1 [85].

Можно отметить, что в настоящее время вязкоупругие модели дробного порядка уже используются в биомеханике при рассмотрении динамики развития различных заболеваний, на их основе разрабатываются эффективные алгоритмы интерпретации специфических параметров, позволяющие более эффективно предсказывать изменения в тканях, ассоциированные с развитием большого числа патологий [42, 61, 68, 69, 72].

Далее предлагается модель, описывающая вязкоупругое поведение биоматериалов, построенная с использованием математического аппарата дробного интегродифференцирования, что позволяет учесть нелинейность поведения биоструктур [26, 85].

Построение дробной модели вязкоупругого поведения биоматериала выполнено на основе принципа Вольтерра (метода фиктивных перемещений) [9, 11–14]. В качестве ядра ползучести было взято ядро Абеля [26, 85]

$$R_\gamma(t) = \frac{t^\gamma}{\Gamma(1+\gamma)}, \quad (-1 < \gamma < 0). \quad (6)$$

В работе [11–13] описана процедура построения формулы для вычисления величины внедрения индентора в образец с течением времени $h(t)$ как выражение с дробным оператором

$$h^\gamma(t) = {}_0D_t^\alpha h(t). \quad (7)$$

Здесь

$${}_0D_t^\alpha f(t) = \frac{1}{\Gamma(1-\alpha)} \left[\frac{f(0)}{t^\alpha} + \int_0^t \frac{f'(\xi)}{(t-\xi)^\alpha} d\xi \right]. \quad (8)$$

При получении (8) использовалось определение дробной производной Римана–Лиувилля порядка $0 \leq \alpha < 1$ для функции $f(t)$ с нижней границей интегрирования, равной 0 [26].

В соответствии с (7), например для решения Герца (1), зависимость углубления индентора от усилия, действующего на него, имеет вид

$${}_0D_t^\alpha h(t) = P^{\frac{2}{3}} \sqrt[3]{\frac{9}{16} \left(\frac{1-\mu^2}{E} \right)^2 \frac{1}{R}}. \quad (9)$$

Поскольку авторов интересует определение модулей упругости биотканей, то из (9) получаем такое выражение для модуля упругости:

$$E = \frac{3P(1-\mu^2)}{4\sqrt{R}({}_0D_t^\alpha h(t))^{\frac{3}{2}}}.$$

Аналогично для индентора с конусоидальной формой поверхности, переходящей в сферическое основание, согласно (6)–(9), имеем

$$P = \frac{2E}{(1-\mu^2)} \left(a {}_0D_t^\alpha h(t) - \frac{a^2}{2 \operatorname{tg}\theta} \arccos\left(\frac{b}{a}\right) - \frac{a^3}{3R} + \left(\frac{b}{2 \operatorname{tg}\theta} + \frac{a^2 - b^2}{3R} \right) \right).$$

Здесь a – радиус контактной зоны, определяемый следующим образом:

$${}_0D_t^\alpha h(t) + \frac{a}{R} \left(\sqrt{a^2 - b^2} - a \right) - \frac{a}{\operatorname{tg}\theta} \arccos\left(\frac{b}{a}\right) = 0.$$

Модуль упругости в этом случае вычисляется в соответствии с формулой

$$E = \frac{P(1-\mu^2)}{2 \left(a {}_0D_t^\alpha h(t) - \frac{a^2}{2 \operatorname{tg}\theta} \arccos\left(\frac{b}{a}\right) - \frac{a^3}{3R} + \left(\frac{b}{2 \operatorname{tg}\theta} + \frac{a^2 - b^2}{3R} \right) \right)}.$$

Итак, построены формулы для определения модуля упругости реологических материалов как функции времени и с использованием производных дробного порядка. Эти решения были использованы при изучении свойств эритроцитов для выбранных партий изучаемого биоматериала.

О методиках определения точки контакта в методе силовой спектроскопии

Как указывалось ранее, актуальной и весьма сложной проблемой при исследовании состояния и свойств материалов на основе метода атомно-силовой микроскопии является точное определение точки контакта зонда с исследуемой средой [30]. В результате изучения образцов в качестве выходных данных получают силовые кривые – зависимости изгиба кантилевера от высоты зонда. В наноразмерных образцах на зонд со стороны изучаемого материала действуют многочисленные силы различной природы, такие как силы Ван-дер-Ваальса, капиллярные, электростатические, магнитные, силы адгезии и др. [27, 29, 45, 54, 77]. Эффекты от этих сил до сих пор, применительно к рассматриваемым технологиям, недостаточно полно изучены [36, 52, 65, 71, 79]. Поэтому в данном случае, учитывая пространственные масштабы, на которых действуют упомянутые силы, точно оценить их воздействие на зонд не представляется возможным. Так, например, капиллярные силы возникают при непосредственной близости зонда к поверхности при наличии на ней слоя жидкости, толщину которого на данных масштабах сегодня технически определить нельзя [54, 65].

В связи с этим до настоящего времени нет методик точного расчета точки контакта, хотя существуют экспериментально построенные зависимости силы от расстояния [37, 80, 83]. С достаточной степенью надежности можно оценить лишь область, в которой нахождение этой точки представляется наиболее вероятным. Выделение данной области осуществляется путем анализа характера воздействия этих сил на зонд при его приближении к поверхности исследуемого объекта.

На больших расстояниях на зонд воздействуют электростатические и магнитные силы, влияние которых обычно несущественно, поэтому силовая кривая в этой области близка к константе (рис. 2, область *B*). При дальнейшем приближении зонда к поверхности образца начинают преобладать силы межмолекулярного притяжения или силы Ван-дер-Ваальса (рис. 2, область *A*) [3]. В промежуточной области между областью контакта и отсутствием такового начинают преобладать силы отталкивания атомов, обусловленные квантовыми эффектами (рис. 2, область *C*). При переходе в область контакта на зонд начинают действовать силы упругого отталкивания, которые существенно превышают влияние всех остальных сил [3]. Таким образом, область *C* является областью возможного контакта (см. рис. 2).

В статье [43] предложен эффективный алгоритм определения точки контакта – алгоритм Крика. При разработке этого метода использовалось решение контактной задачи для зонда конусоидальной формы со сферическим концом, аналогичное решению, приведенному ранее.

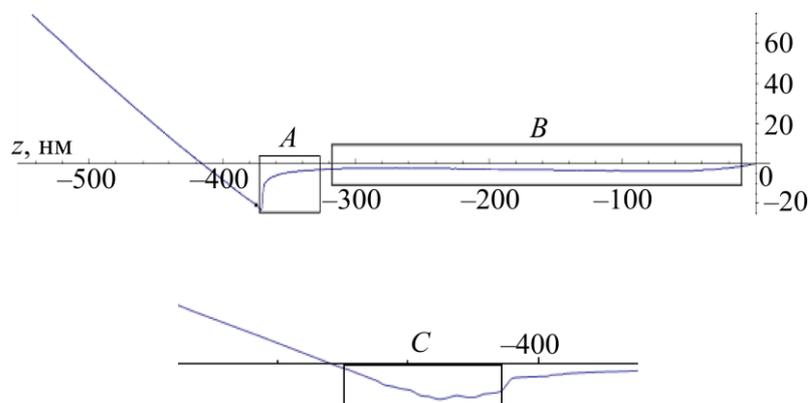


Рис. 2. Примеры кривой подвода-отвода в режиме силовой спектроскопии

Алгоритм Крика построен на основе сравнения графиков зависимости изгиба консоли от положения кантилевера после его контакта с образцом, полученных опытным путём и из решения контактной задачи для различных постоянных значений модуля упругости, с учетом, что после контакта влияние всех остальных сил по сравнению с силой упругого отталкивания незначительно [12, 43].

Предложенный алгоритм Крика был проверен нами на практике при исследовании наборов эритроцитов методом силовой спектроскопии. В качестве эксперимента в результате обработки данных лабораторных исследований авторами была выполнена оценка влияния выбора различных точек в качестве точки контакта на значение модуля упругости эритроцитов (320 наборов данных) [11–13]. Как видно из рис. 3, выбор точки контакта влияет не только на значение контактного усилия и глубину внедрения индентора, но и на форму графика зависимости модуля упругости эритроцита от нормализованного времени. При этом, как показали исследования, колебание значения модуля упругости достигает $\pm 25\%$. Таким образом, очевидно существенное влияние выбора точки контакта на значение модуля упругости [83].

С опорой на алгоритм Крика была написана программа по расчету точки контакта. При проверке эффективности этого алгоритма на реальных данных, полученных нами в опытах с эритроцитами, проявилась его достаточно низкая эффективность для кривых отвода-подвода, которые не соответствуют «идеальной» форме кривых, на основании которых разрабатывался данный алгоритм [11–13]. Следует отметить, что при любом довольно существенном отклонении значения изгиба кантилевера в доконтактной области от среднего значения в этой области по алгоритму в большинстве таких случаев невозможно определить область возможного контакта.

В связи с указанными замечаниями авторами была выполнена модификация алгоритма Крика для повышения точности определения области возможного контакта. Предложенный модифицированный алгоритм поиска области возможного контакта оказался эффективным для всех 320 наборов экспериментальных данных, что свидетельствует о его высокой эффективности [11–13].

При дальнейшем исследовании оказалось, что даже при использовании усовершенствованного алгоритма Крика для поиска области возможного контакта определение точки контакта в некоторых случаях приводит к неверным результатам. Пример такой ситуации приведен на рис. 4.

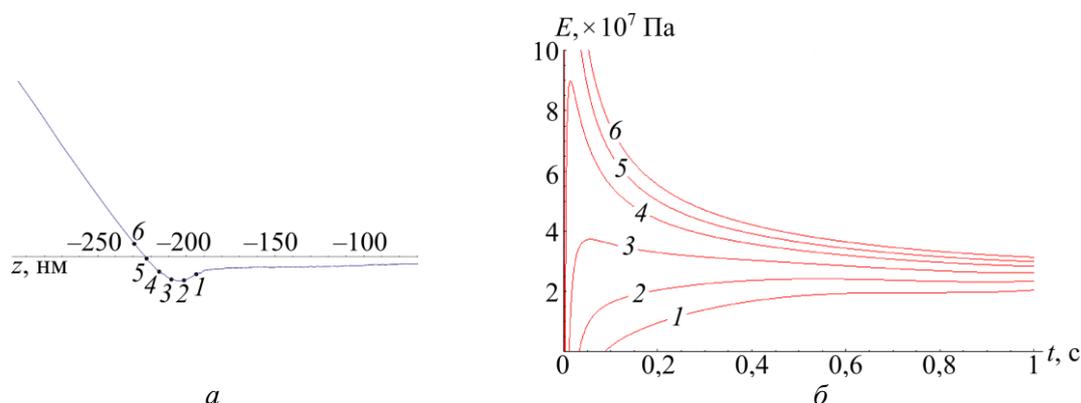


Рис. 3. Определение точек контакта и модуля упругости эритроцита: *а* – увеличенный участок кривой подвода-отвода, на которой точки 1–6 взяты в качестве точек контакта с интервалами 5 точек; *б* – графики зависимости модуля упругости эритроцита от нормализованного времени (0 – начало контакта зонда с поверхностью образца, 1 – конец процесса углубления зонда в образец), рассчитанные по модели Герца, где за точку контакта берется точка с номером, соответствующим номеру графика

Данная ситуация имеет место вследствие того, что в предложенном модифицированном алгоритме определения точки контакта прямая подвода-отвода оценивается линейной зависимостью и параметры определения точности этого приближения иногда не дают возможности адекватно обрабатывать случаи, когда в области возможного контакта присутствует пик, что является достаточно частым случаем для кривых подвода-отвода, полученных методом силовой спектроскопии (рис. 4). Для этих кривых точка, до которой не может быть контакта, определяется на основании аналитической оценки характера воздействия сил на зонд на наномасштабном уровне.

В связи с изложенным, с целью получения достоверных результатов для максимально широкого набора экспериментальных данных при использовании метода силовой спектроскопии был разработан алгоритм автоматического определения точки контакта, принципиально отличающийся от описанных ранее.

В алгоритме Крика за основу принято исследование формы кривой, определяющей зависимость величины изгиба кантилевера от его положения по вертикали, построенной по выбранной модели (конусоидальный индентор со сферическим основанием, например). При этом принимается, что модуль упругости является величиной постоянной.

При разработке нового алгоритма решения задачи определения точки контакта в качестве базовой была рассмотрена следующая задача: исследовать точку контакта индентора с образцом, опираясь на полученную экспериментальную зависимость модуля упругости от нормализованного времени индентирования. В качестве решения контактной задачи для получения модуля упругости было использовано решение Снеддона [73, 74]. Такой выбор обусловлен тем, что решение Снеддона не содержит в своей структуре геометрическое приближение. Последнее обстоятельство в рассматриваемой ситуации, учитывая глубину индентирования, может приводить к возникновению большой погрешности.

Для сравнения двух разработанных алгоритмов был выполнен расчет точки контакта согласно описанному разработанному новому алгоритму и расчет зависимостей модуля упругости для этой же точки контакта для тех же данных,

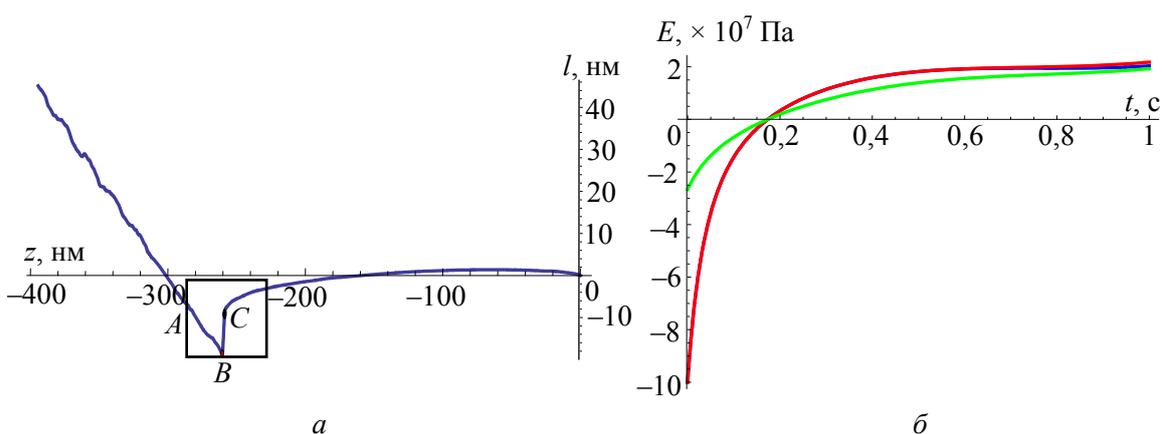


Рис. 4. Визуализация полученных вычислительных результатов: *a* – кривая подвода-отвода: область *A* («черный прямоугольник») – область возможного контакта; точка *B* – минимум в области пика, первая возможная точка контакта; точка *C* – точка контакта, полученная по алгоритму Крика; *б* – графики зависимости модуля упругости эритроцита от нормализованного времени: — построен по решению Герца; — на основании решения для конусоидального индентора со сферическим основанием; — построен по решению Снеддона для сферы, где за точку контакта берется точка, рассчитанная по алгоритму Крика

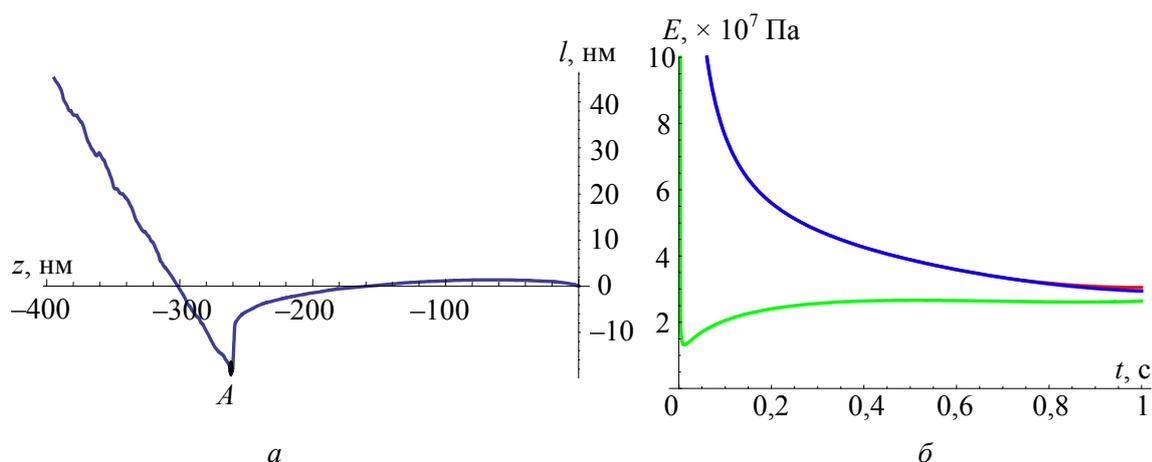


Рис. 5. Результаты вычислительного эксперимента: *а* – кривая подвода-отвода, *A* – точка, которая взята за точку контакта, рассчитанная по разработанному новому алгоритму; *б* – графики зависимости модуля упругости эритроцита от нормализованного времени: — построено по решению Герца; — на основании решения для конусоидального индентора со сферическим основанием; — построено по решению Снеддона для сферы, где за точку контакта берется точка, рассчитанная по алгоритму Крика

что использовались и для расчета точки контакта в соответствии с модифицированным алгоритмом Крика. Выполненные расчеты показали, что предложенный новый алгоритм определяет точку контакта более точно, что существенно влияет на форму графиков зависимости модуля упругости от времени.

Дальнейшая проверка эффективности разработанного нового алгоритма, выполненная на упоминаемых 320 образцах данных, полученных для эритроцитов методом силовой спектроскопии, показала, что ни одна из точек, определенных на основе нового алгоритма, не выходит за пределы аналитически найденной области контакта.

По сравнению с алгоритмом Крика при использовании модифицированного алгоритма точка контакта определяется более корректно, в особенности для особых случаев, когда другие алгоритмы не позволяют получить однозначного решения (см. рис. 4, 5).

Следует отметить, что для тех ситуаций, когда возможная точка контакта при использовании модифицированного алгоритма Крика определялась с большой степенью надежности, и в этом случае эти точки совпадали или находились в непосредственной близости от точек контакта, определенных по разработанному новому алгоритму.

Все вышесказанное свидетельствует о том, что разработанный модифицированный алгоритм в целом в несколько раз эффективнее алгоритма Крика.

О результатах экспериментальных и клинических исследований по определению упругих характеристик биоматериалов на основе метода силовой спектроскопии

Сердечно-сосудистые заболевания, наравне с онкологическими заболеваниями и сахарным диабетом, прочно удерживают первенство среди самых распространенных и опасных болезней XXI века. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, к 2030 г. около 23,3 млн человек умрет от болезней сердца и инсульта. Сердечно-сосудистые заболевания являются причиной смерти более чем в 57 % случаев общей смертности населения Земли [81].

Острый коронарный синдром определен как наиболее тяжелый период обострения ишемической болезни сердца. Как правило, в течение первого года после первого эпизода острого коронарного синдрома у 25 % пациентов встречается повторная коронарная атака, приводящая к инфаркту миокарда, инсульту или смерти [17, 83, 84].

Сердечно-сосудистые заболевания приводят к нарушениям реологических свойств крови. В частности, до 40 % пациентов с ишемической болезнью сердца имеют существенные нарушения реологии крови с характерным повышенным уровнем вязкости крови и замедленным кровотоком, что свидетельствует об изменениях таких важных реологических свойств эритроцитов, как деформируемость и агрегируемость [15, 17, 18, 20, 22, 25]. При этом снижение деформируемости эритроцитов приводит к нарушению капиллярного кровотока, снижению снабжения миокарда кислородом и развитию острых приступов ишемии.

Одной из основных задач фармакологии является создание высокоэффективных лекарственных препаратов для профилактики и лечения заболеваний с целью увеличения продолжительности жизни и периода трудоспособной активности людей. При сердечно-сосудистых заболеваниях изучение гемореологических модификаций, вызванных изменением физико-механических характеристик эритроцитов, приобретает особо важное значение, поскольку именно реологические свойства крови определяют транспорт кислорода и лекарственных препаратов в микрососудах [22]. В этой связи построение механико-математических моделей, позволяющих анализировать эластичность эритроцитов, скорость проникновения лекарственных препаратов через биологическую ткань и доставку препаратов к определенным органам, является актуальным и важным [11–13, 83, 84].

*Исследование упругих свойств эритроцитов методом силовой спектроскопии.
Интерпретация результатов измерений*

В данной части работы приведены результаты выполненных клинических исследований с использованием разработанных алгоритмов определения точки контакта индентора и биотканей и предложенных механико-математических моделей расчета механических характеристик образцов как решения соответствующих контактных задач механики [11, 13, 18].

Экспериментальные исследования выполнялись с образцами эритроцитов, полученными от 30 пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента электрокардиограммы, отвечающего за период сердечного цикла, когда оба желудочка полностью охвачены возбуждением (*ST*), возраст – $61,2 \pm 3,6$ г., из них 52,6 % пациентов – мужчины, 47,4 % – женщины.

У пациентов первой группы ($n = 10$) к медикаментозной терапии, включающей в себя назначение дезагрегантов (аспирин, клопидогрель), антикоагулянтов (низкомолекулярные гепарины), ингибиторов ангиотензинпревращающих ферментов, бета-адреноблокаторов, статинов, нитратов короткого и пролонгированного действия, была добавлена экстракорпоральная ультрафиолетовая модификация крови [11, 13]. Осуществлялось проточное облучение крови из локтевой вены на аппарате «Надежда» с ртутной лампой, 80 % излучения которой приходится на длину волны $\lambda = 254$ нм. В процессе ультрафиолетовой модификации кровь, протекавшая из локтевой вены через кварцевую кювету емкостью 3 мл, облучалась в течение 20 мин, а затем весь объем забираемой крови (~ 150 мл) возвращался пациенту через облучаемую кювету. Плотность мощности на поверхности кюветы составляла $1,5$ мВт/см². Используемая доза с учетом общего объема отобранной крови и объема облучаемой кюветы была равна $0,07$ Дж/см². Курс лечения состоял из 5 процедур длительностью 40 минут ежедневно. Первая процедура ультрафиолетовой модификации крови проводилась через 48 часов после поступления пациента в стационар.

Пациентам второй группы ($n = 10$) к медикаментозному лечению была добавлена экстракорпоральная аутогемоманнитотерапия [11, 13] при помощи аппарата *HEMOSPOK* в режиме № 8 (индукция магнитного поля 120 мТл, 20 минут). Кровь бралась из вены во флакон с антикоагулянтом (гепарин, 5000 единиц) ежедневно, по одной процедуре в течение 5 дней. Первая процедура магнитотерапии проводилась через 48 часов после поступления пациента в стационар.

Контрольная группа здоровых лиц состояла из 10 доноров. Пациенты основной и контрольной групп были сопоставимы по полу и возрасту. Оценивались клинический эффект комбинированной терапии, динамика электрофоретической подвижности эритроцитов, упругие свойства эритроцитов методом силовой спектроскопии.

В исследованиях использовался атомно-силовой микроскоп *NT-206* (ОАО «Микротестмашины», Беларусь) с возможностью микропозиционирования зонда над образцом в пределах площадки 10×10 нм. Сканирование осуществлялось кремневыми зондами жесткостью 3 Н/м и углом раствора 40° . Специально для исследования эритроцитов зонд был предварительно затуплен таким образом, что радиус закругления острия зонда увеличился до значений 40–60 нм.

Для расчета зависимости модуля упругости для каждого из 320 наборов данных, полученных по образцам эритроцитов пациентов до и после лечения, использовались следующие приведенные в данной статье решения задачи индентирования [12]:

- 1) классическое решение задачи Герца для сферического индентора (модель 1);
- 2) решение для конусоидального индентора со сферическим основанием (модель 2);
- 3) решение Снеддона для сферы (модель 3);
- 4) решение Герца для вязкоупругих материалов с использованием дробных производных (модель 4);
- 5) решение задачи для конусоидального индентора со сферическим основанием для вязкоупругих материалов с использованием производных дробного порядка (модель 5).

Кроме того, для каждого набора данных применялись два алгоритма определения точки контакта: модифицированный алгоритм Крика расчета точки контакта и разработанный новый алгоритм расчета точки контакта [13].

Обратим внимание на имеющиеся отличия итоговых зависимостей, полученных для решений с учетом процессов вязкоупругости с использованием дробных производных порядка $\alpha = 0,2$, от обычных решений (рис. 6).

Так, на основании результатов, представленных на рис. 1, видно, что учет вязкоупругости с использованием дробных производных порядка $\alpha = 0,2$ позволяет получить зависимости модуля упругости от нормализованного времени индентирования очень близкими к константе. Более того, в отличие от полученных результатов для аналогичных моделей с дробными производными, но без учета процессов вязкоупругости, они значительно лучше коррелируют с решением Снеддона [73, 74].

Результаты исследований позволяют сделать вывод об эффективности использования модельных решений для вязкоупругих материалов с использованием дробных производных при выполнении оценки упругих свойств биологических тканей, таких как эритроциты.

Полученные данные использовались для изучения эффективности лечебного действия ультрафиолетовой модификации крови и экстракорпоральной аутогемоманнитотерапии на пациентах с острым коронарным синдромом.

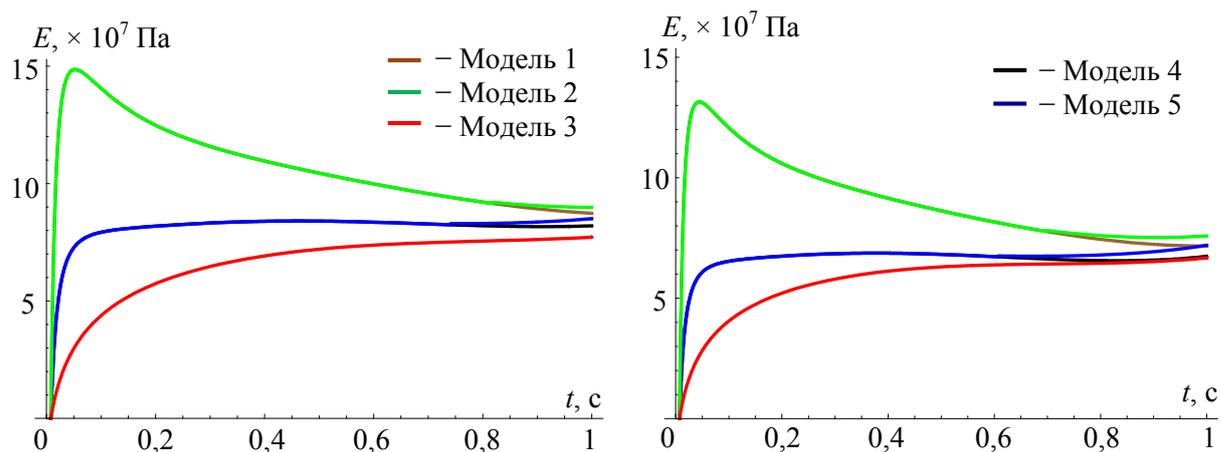


Рис. 6. Примеры графиков зависимости модуля упругости эритроцитов от нормализованного времени

Для решения данной задачи применялись результаты лечения 30 пациентов, находящихся в острой фазе ишемической болезни сердца (13 пациентов с диагнозом «Прогрессирующая стенокардия», 7 пациентов с диагнозом «Субэндокардиальный инфаркт миокарда»), в комплексное лечение которых включался курс ультрафиолетовой модификации крови или экстракорпоральной аутогемотерапии. В контрольную группу входило 10 пациентов (пациенты 3, 7, 8) с острым коронарным синдромом (7 пациентов с диагнозом «Прогрессирующая стенокардия», 3 пациента с диагнозом «Субэндокардиальный инфаркт миокарда»).

В результате для каждого образца данных по эритроцитам было получено по 10 результатов зависимостей модуля упругости от нормализованного времени (5 видов решений, для каждого по два способа определения точки контакта).

Исследовались образцы эритроцитов пациентов до и после проведения курса лечения. Для каждого пациента по полученным данным был рассчитан средний модуль упругости до и после лечения. Результаты расчетов представлены в таблице.

Вследствие применения ультрафиолетовой модификации крови, как видно из таблицы, после лечения у всех пациентов неконтрольной группы модуль упругости эритроцитов существенно увеличился и было отмечено снижение частоты и длительности приступов стенокардии. Показатель электрофоретической подвижности эритроцитов у здоровых доноров составил $1,164 \pm 0,0003 \text{ мс-1V-1 см}$, у пациентов с острым коронарным синдромом до выполнения ультрафиолетовой модификации крови – $1,06 \pm 0,02 \text{ мс-1V-1 см}$, $p < 0,05$. После проведения первой процедуры ультрафиолетовой модификации крови показатель электрофоретической подвижности эритроцитов увеличился с $1,06 \pm 0,02$ до $1,09 \pm 0,01 \text{ мс-1V-1 см}$, $p < 0,001$.

После курса ультрафиолетовой модификации крови показатель электрофоретической подвижности эритроцитов увеличился до $1,11 \pm 0,02 \text{ мс-1V-1 см}$ по сравнению с исходными значениями до проведения процедуры, $p < 0,001$ [19]. У пациента 8 наблюдалось незначительное понижение значения модуля упругости, вызванное острым коронарным синдромом на фоне прогрессирующего онкологического заболевания.

Таким образом, при применении ультрафиолетовой модификации крови у всех пациентов модуль упругости увеличился, что свидетельствует об эффективности включения ультрафиолетовой модификации крови в комплексную терапию пациентов с острым коронарным синдромом.

**Среднее значение модуля упругости эритроцитов E , МПа, пациентов до и после лечения
(МАТК – модифицированный алгоритм Крика расчета точки контакта, РАТК –
разработанный новый алгоритм расчета точки контакта [13, 25])**

Пациент		Модель									
		1		2		3		4		5	
		МАТК	РАТК	МАТК	РАТК	МАТК	РАТК	МАТК	РАТК	МАТК	РАТК
1	до	41,93	40,36	42,15	40,55	29,97	28,11	35,09	32,18	35,39	32,44
	после	94,79	106,09	95,73	106,7	74,25	79,95	85,56	89,48	86,76	90,45
2	до	31,46	31,12	32,15	31,82	26,16	25,83	27,65	26,95	28,5	27,83
	после	172,85	188,11	172,9	188,15	76,26	76,89	156,56	163,04	156,63	163,1
3	до	81,05	82,25	83,98	95,31	49,08	49,63	71,37	71,22	72,02	72,72
	после	92,75	103,18	94,84	103,21	51,85	53,35	77,61	81,26	77,67	81,3
4	до	38,94	41,27	39,3	41,55	29,71	30,85	33,47	33,79	34	34,24
	после	72,07	76,45	71,45	78,09	59,25	61,52	66,62	67,32	68,74	69,25
5	до	93,95	102,99	93,97	103	54,14	54,27	88,29	89,12	88,32	89,22
	после	158,45	186,23	158,57	186,33	77,52	82,74	147,24	156,06	147,39	156,19
6	до	49,18	51,89	49,42	51,94	36,89	38,04	42,69	43,21	43,06	43,52
	после	94,46	101,46	94,5	101,03	58,11	60,07	82,27	85,29	82,33	85,34
7	до	54,05	58,41	54,46	58,75	39,83	41,78	47,26	48,29	47,78	48,75
	после	96,48	96,7	96,56	96,79	58,11	58,52	79,17	79,39	79,31	79,56
8	до	34,72	38,55	34,95	38,74	25,54	27,75	28,12	29,65	28,46	29,96
	после	26,55	28,5	26,8	28,7	19,15	20,12	21,11	22,06	21,4	22,5

Выводы

Рассмотрена комплексная задача восстановления механических свойств биологических структур как задача обработки результатов экспериментальных данных при использовании технологий, основанных на контакте и внедрении индентора в образцы биотканей. Выполнен анализ механико-математических моделей, описывающих механические процессы, сопровождающие данные технологии. Показано, что повышение адекватности моделей реальным физическим процессам может быть обеспечено путем модификации моделей на основе использования аппарата дробного исчисления.

Выполненные исследования, в частности, показали, что при использовании простой модели Фойгта дробного порядка (с дробной производной по времени) в качестве модели поведения среды при рассмотрении технологий динамической эластографии получаемые расчетные значения лучше коррелируют с экспериментальными данными в широком диапазоне частот по сравнению с использованием стандартной модели Фойгта целого порядка и стандартной линейной модели твердого тела, имеющей такое же число независимых параметров, как и модель Фойгта дробного порядка.

Поэтому использование моделей поведения среды дробного порядка имеет большие практические применения в области медицинской диагностики состояния биотканей. Повышение точности модели может быть достигнуто путем уточнения моделей дробного порядка, например введением добавочных дробных элементов.

В статьях данной серии предложены новые модели и алгоритмы для дальнейшего развития технологии изучения свойств и состояния биоматериалов на основе метода атомно-силовой микроскопии, описаны результаты выполненных экспериментов с использованием разработанных новых подходов применительно к расчетам модуля упругости эритроцитов [12, 13].

Построены новые решения задачи индентирования с учетом вязкоупругости исследуемого материала на основе метода фиктивных перемещений (принцип Вольтерра) с использованием интегродифференцирования дробного порядка.

Выполненные расчеты модуля упругости на основе новых решений с использованием результатов экспериментов, полученных методом силовой спектроскопии, показали высокую эффективность и достоверность предложенных методик, включающих технологию расчета точки контакта индентора с образцом, и уточненных математических моделей для вычисления упругих характеристик образцов на основе обработки экспериментальных данных.

Выполнен анализ алгоритма Крика определения точки контакта для данных, полученных экспериментальным путем, показана недостаточная эффективность данного алгоритма применительно к биоматериалам. Предложена модификация алгоритма Крика, в результате его эффективность увеличилась в несколько раз.

Вместе с тем показано, что существуют ситуации, когда и модифицированный алгоритм Крика не позволяет получить корректные результаты. Поэтому был разработан отличающийся от предыдущих новый алгоритм определения точки контакта.

Выполненные эксперименты по проверке предложенных алгоритмов на 320 образцах эритроцитов показали их высокую эффективность. Отмечен достоверный эффект включения в комплексное лечение пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента электрокардиограммы, отвечающего за период сердечного цикла, когда оба желудочка полностью охвачены возбуждением (*ST*), процедур ультрафиолетовой модификации крови, выраженный общим положительным клиническим эффектом, улучшением электрофоретической подвижности эритроцитов, модуля упругости эритроцитов, отсутствием деструкции белков плазмы и фотогемолиза эритроцитов [19].

Разработанные технологии были использованы при анализе штампов конкретных пациентов Учреждения здравоохранения «9-я городская клиническая больница» города Минска, страдающих ишемической болезнью сердца, острым коронарным синдромом, для изучения эффективности таких применяемых лечебных технологий, как экстракорпоральная ультрафиолетовая модификация крови и экстракорпоральная аутогемомагнитотерапия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абетковская С.О., Чижик С.А. Динамическая силовая спектроскопия «мягких» материалов // Тепло- и массоперенос: сб. науч. тр. – Минск, 2007. – С. 323–330.
2. Аптуков В.Н., Митин В.Ю., Молоштанова Н.Е., Морозов И.А. Механические характеристики карналлита, шпатовой соли и сильвинита в нанодиапазоне // Физико-технические проблемы разработки полезных ископаемых. – 2013. – № 3. – С. 49–56.
3. Бараш Ю.С. Силы Ван-дер-Ваальса. – М.: Наука, 1988. – 344 с.
4. Беляев А.Ю., Гилева О.С., Муравьева М.А., Свистков А.Л., Скачков А.П. Исследование механических свойств здоровой и поврежденной кариесом зубной эмали с помощью микроиндентирования // Российский журнал биомеханики. – 2012. – Т. 16, № 3. – С. 57–64.
5. Галин Л.А. Контактные задачи теории упругости и вязкоупругости – М.: Наука, 1980. – 304 с.

6. Гетманенко Н.Ю., Галайченко Е.Н., Рожичкий Н.Н. Атомно-силовой микроскоп как инструмент исследования структуры поверхности эритроцитов // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. – 2009. – Т. 4, № 10. – С. 7–10.
7. Джонсон К.Л. Механика контактного взаимодействия. – М.: Мир, 1989. – 510 с.
8. Дрозд Е.С., Чижик С.А., Константинова Е.Э. Атомно-силовая микроскопия структурно-механических свойств мембран эритроцитов // Российский журнал биомеханики. – 1995. – Т. 13, № 4. – С. 22–30.
9. Журавков М.А. Математическое моделирование деформационных процессов в твердых деформируемых средах (на примере задач механики горных пород и массивов). – Минск: Изд-во БГУ, 2002. – 456 с.
10. Журавков М.А. Фундаментальные решения теории упругости и некоторые их применения в геомеханике, механике грунтов и оснований. – Минск: Изд-во БГУ, 2008. – 247 с.
11. Журавков М.А., Митьковская Н.П., Ласкина О.В., Романова Н.С., Прохоров Н.А. Об определении свойств биоматериалов на основе технологий наноиндентирования. Часть 3. Результаты клинических испытаний // Механика машин, механизмов и материалов. – 2015. – № 2. – С. 74–79.
12. Журавков М.А., Романова Н.С., Прохоров Н.А. Об определении свойств биоматериалов на основе технологий наноиндентирования. Часть 1. Модификация моделей контактной механики при моделировании процессов наноиндентирования // Механика машин, механизмов и материалов. – 2015. – № 1. – С. 15–35.
13. Журавков М.А., Романова Н.С., Прохоров Н.А. Об определении свойств биоматериалов на основе технологий наноиндентирования. Часть 2. Методики определения точки контакта в методе силовой спектроскопии // Механика машин, механизмов и материалов. – 2015. – № 1. – С. 36–48.
14. Журавков М.А., Старовойтов Э.И. Механика сплошных сред. Теория упругости и пластичности: учеб. пособие для студентов высших учебных заведений по специальности «Механика». – Минск: Изд-во БГУ, 2011 – 543 с.
15. Залеская Г.А., Акулич Н.В., Марочков А.В., Ласкина О.В., Митьковская Н.П. Оптические методы коррекции кислородтранспортных характеристик крови и их биомедицинские применения // Журнал прикладной спектроскопии. – 2010. – Т. 77, № 3. – С. 451–459.
16. Кучумов А.Г., Солодько В.Н., Самарцев В.А., Гаврилов В.А., Чайкина Е.С. Исследование микрорельефа и измерение механического отклика современных биополимерных шовных материалов при наноиндентировании // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Математика. Механика. Информатика. – 2013. – Т. 13, № 2 (1). – С. 69–77.
17. Ласкина О.В., Залеская Г.А., Митьковская Н.П. Электрофоретическая подвижность эритроцитов у пациентов с острым коронарным синдромом в процессе проведения ультрафиолетовой модификации крови и экстракорпоральной аутогемагнитотерапии // Антикоагулянтная терапия на современном уровне: сб. науч. ст. БГМУ. – Минск, 2010. – С. 42–46.
18. Ласкина О.В., Митьковская Н.П., Залеская Г.А., Улащик В.С. Применение ультрафиолетовой модификации крови для лечения больных с острым коронарным синдромом // Актуальные вопросы кардиологии: сб. науч. тр., посвящ. 10-летию юбилею сотрудничества между Бел. гос. мед. ун-том, интервенционными кардиологами Университета Западного Онтарио (Канада) и кардиологами РБ, Минск, 21 мая 2010 г. / под ред. С.Л. Кабака, Н.П. Митьковской. – Минск, 2010. – С. 167–175.
19. Ласкина О.В., Митьковская Н.П., Кирковский В.В., Левин В.И., Журавков М.А., Романова Н.С., Прохоров Н.А. Применение ультрафиолетовой модификации крови в комплексном лечении пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST // II Международная конференция Евразийской ассоциации терапевтов и научно-практическая конференция: сб. тез. – Бишкек, 2015. – С. 27–28.
20. Люсов В.А., Парфенов А.С. Гемостаз и реология крови при различных формах ишемической болезни сердца // Актуальные проблемы гемостазиологии. – М., 1979. – 140 с.
21. Нагорнов Ю.С., Богомолов А.С., Аксенова Е.А., Анохина Т.В., Корнеева С.А., Зотова М.А., Наумов В.В., Смирнова Т.Г., Наседкина А.А., Сокурова А.М., Юлдашев А.В. Вычисление объема эритроцитов при анализе данных атомно-силовой микроскопии // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 1. – С. 181–184.
22. Петроченко Е.П., Тихомирова И.А., Петроченко А.С. Влияние аспирина на реологические свойства крови пациентов с ишемической болезнью сердца [Электронный ресурс] // Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал. – 2008. – Т. 7, Вып. 1. – URL: www.smolensk.ru/user/sgma/MMORPH/N-17-html/tikhomirova/tikhomirova.htm (дата обращения: 18.02.2015).
23. Попов Г.Я. Концентрация упругих напряжений возле штампов, разрезов, тонких включений и подкреплений – М.: Наука, 1982. – 344 с.

24. Рвачев В.Л., Проценко В.С. Контактные задачи теории упругости для неклассических областей. – Киев: Наукова думка, 1977. – 235 с.
25. Ройтман Е.В. Клиническая гемореология // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2003. – Т. 3, № 15. – С. 14–15.
26. Самко С.Г., Килбас А.А., Маричев О.И. Интегралы и производные дробного порядка и некоторые их приложения. – Минск: Наука и техника, 1987. – 688 с.
27. Суслов А.А., Чижик С.А. Сканирующие зондовые микроскопы (обзор) // Материалы, технологии, инструменты. – 1997. – Т. 2. – С. 78–89.
28. Ужегова Н.И., Свистков А.Л., Гаришин О.К. Теоретическое моделирование взаимодействия индентора атомно-силового микроскопа с жидкой нанопленкой на поверхности образца // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Т. 15, № 6 (2). – С. 512–516.
29. Alonso J.L., Goldmann W.H. Feeling the forces: atomic force microscopy in cell biology // Life Science. – 2003. – Vol. 72, № 23. – P. 2553–2560.
30. Argatov I.I. Depth-sensing indentation of a transversely elastic layer: second-order asymptotic models for canonical indenters // Int. Journal of Solids and Structures. – 2011. – Vol. 48. – P. 3444–3452.
31. Argatov I.I., Sabina F.J. Asymptotic analysis of the substrate effect for an arbitrary indenter // The Quarterly Journal of Mechanics and Applied Mathematics. – 2010. – Vol. 66, № 1. – P. 75–95.
32. Bae W.C., Temple M.M., Amiel D., Coutts R.D., Niederauer G.G., Sah R.L. Indentation testing of human cartilage: sensitivity to articular surface degeneration // Arthritis Rheum. – 2003. – Vol. 48. – P. 3382–3394.
33. Benoit M. Cell adhesion measured by force spectroscopy on living cells // Methods Cell Biol. – 2002. – Vol. 68. – P. 91–114.
34. Benoit M., Gaub H.E. Measuring cell adhesion forces with the atomic force microscope at the molecular level // Cells Tissues Organs. – 2002. – Vol. 172, № 3. – P. 174–189.
35. Broom N.D., Flachsmann R. Physical indicators of cartilage health: the relevance of compliance, thickness, swelling and fibrillar texture // Journal of Anatomy. – 2003. – Vol. 202, № 6. – P. 481–494.
36. Butt H., Cappella B., Kappl M. Force measurements with the atomic force microscope: technique, interpretation and applications // Surface Science Reports. – 2005. – Vol. 59, № 1–6. – P. 1–152.
37. Buzio R., Valbusa U. Probing the role of nanoroughness in contact mechanics by atomic force microscopy // Advances in Science and Technology. – 2006. – Vol. 51. – P. 90–98.
38. Canetta E., Duperray A., Leyrat A., Verdier C. Measuring cell viscoelastic properties using a force-spectrometer: Influence of protein cytoplasm interactions // Biorheology. – 2005. – Vol. 42, № 5. – P. 321–333.
39. Cartagena A., Raman A. Local viscoelastic properties of live cells investigated using dynamic and quasi-static atomic force microscopy methods // Biophysical Journal. – 2014. – Vol. 106, № 5. – P. 1033–1043.
40. Chandramohanadas R., Yong Keun Park, Lui L., Li A., Quinn D., Liew K., Diez-Silva M., Yongjin Sung, Ming Dao, Chwee Teck Lim, Preiser P.R., Suresh S. Biophysics of malarial parasite exit from infected erythrocytes // PLoS One. – 2011. – Vol. 6, № 6. – P. e20869. DOI: 10.1371/journal.pone.0020869.
41. Costa L., Rodrigues M.S., Benseny-Cases N., Mayeux V., Chevrier J., Comin F. Spectroscopic investigation of local mechanical impedance of living cells // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, № 7. – P. e101687. DOI: 10.1371/journal.pone.0101687.
42. Craiem D., Rojo F.J., Atienza J.M., Armentano R.L., Guinea G.V. Fractional-order viscoelasticity applied to describe uniaxial stress relaxation of human arteries // Physics in Medicine and Biology. – 2008. – Vol. 53. – P. 4543–4554.
43. Crick S.L., Yin F.C.P. Assessing micromechanical properties of cells with atomic force microscopy: importance of the contact point // Biomech. Model. Mechanobiol. – 2007. – Vol. 6 – P. 199–210.
44. Cross S.E., Gimzewski J.K., Jin Y.S., Rao J.Y. Nanomechanical analysis of cells from cancer patients // Nature Nanotechnology. – 2007. – Vol. 2, № 12. – P. 780–783.
45. De Lazzer A., Dreyer M., Rath H.J. Particle-surface capillary forces // Langmuir. – 1999. – Vol. 15, № 13. – P. 4551–4559.
46. Dimitriadis E.K., Horkay F., Maresca J., Kachar B., Chadwick R. S. Determination of elastic moduli of thin layers of soft material using the atomic force microscope // Biophysical Journal. – 2002. – Vol. 82, № 5. – P. 2798–2810.
47. Elson E.L. Cellular mechanics as an indicator of cytoskeletal structure and function // Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry. – 1988. – Vol. 17, № 1. – P. 397–430.
48. Evans J., Gratzner W., Mohandas N., Parker K., Sleep J. Fluctuations of the red blood cell membrane: relation to mechanical properties and lack of ATP dependence // Biophys. Journal. – 2008. – Vol. 94, № 10. – P. 4134–4144.
49. Cellular and biomolecular mechanics and mechanobiology // Studies in Mechanobiology, Tissue Engineering and Biomaterials / ed. by A. Gefen. – Berlin–Heidelberg: Springer-Verlag, 2011. – Vol. 4. – P. 56.

50. Giessibl F.J. Advances in atomic force microscopy // *Reviews of Modern Physics*. – 2003. – Vol. 75, № 3. – P. 940–949.
51. Haugstad G. Atomic force microscopy: understanding basic modes and advanced applications. – Hoboken: Wiley, 2012. – 520 p.
52. Heim L.O., Kappl M., Butt H.J. Tilt of atomic force microscope cantilevers: effect on spring constant and adhesion measurements // *Langmuir*. – 2004. – Vol. 20, № 7. – P. 2760–2764.
53. Iyer S., Gaikwad R., Subba-Rao V., Woodworth C., Sokolov I. Atomic force microscopy detects differences in the surface brush of normal and cancerous cells // *Nature Nanotechnology*. – 2009. – Vol. 4. – P. 389–393.
54. Jang J., Schatz G.C., Ratner M.A. Capillary force in atomic force microscopy // *The Journal of Chemical Physics*. – 2004. – Vol. 120, № 3. – P. 1157–1160.
55. Kasas S., Ikai A. A method for anchoring round shaped cells for atomic force microscope imaging // *Biophysical Journal*. – 1995. – Vol. 68. – P. 1678–1680.
56. Kataoka N., Iwaki K., Hashimoto K. Measurements of endothelial cell-to-cell and cell-to-substrate gaps and micromechanical properties of endothelial cells during monocyte adhesion // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2002. – Vol. 99, № 24. – P. 15638–15643.
57. Kirmizis D., Logothetidis S. Atomic force microscopy probing in the measurement of cell mechanics // *International Journal of Nanomedicine*. – 2010. – Vol. 5. – P. 137–145.
58. Lekka M., Laidler P., Gil D., Lekki J., Stachura Z., Hryniewicz A.Z. Elasticity of normal and cancerous human bladder cells studied by scanning force microscopy // *Eur. Biophys.* – 1999. – Vol. 28. – P. 312–316.
59. Luque T., Melo E., Garreta E., Cortiella J., Nichols J., Farré R., Navajas D. Local micromechanical properties of decellularized lung scaffolds measured with atomic force microscopy // *Acta Biomaterialia*. – 2013. – Vol. 9, № 6. – P. 6852–6859.
60. Martinez-Martin D., Herruzo E.T., Dietz C., Gomez-Herrero J., Garcia R. Noninvasive protein structural exibility mapping by bimodal dynamic force microscopy // *Phys. Rev. Lett.* – 2011. – Vol. 106. – P. 198101.
61. Meral F.C., Royston T.J., Richard L. Magin surface response of a fractional order viscoelastic halfspace to surface and subsurface sources // *J. Acoust. Soc. Am.* – 2009. – Vol. 126, № 6. – P. 3278–3285.
62. Nalwa H.S. A special issue on reviews in nanomedicine, drug delivery and vaccine development // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. – 2014. – Vol. 10, № 9. – P. 1635–1640.
63. Pelling A.E., Sehati S., Gralla E.B., Valentine J.S., Gimzewski J.K. Local nanomechanical motion of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* // *Science*. – 2004. – Vol. 305. – P. 1147–1150.
64. Plodinec M., Loparic M., Monnier C.A., Obermann E.C., Zanetti-Dallenbach R., Oertle P., Hyotyla J.T., Aebi U., Bentires-Alj M., Lim R.Y., Schoenenberger C.A. The nanomechanical signature of breast cancer // *Nat. Nano.* – 2012. – Vol. 7. – P. 757–765.
65. Rabinovich Y.I., Adler J.J., Esayanur M.S., Ata A., Singh R.K., Moudgil B.M. Capillary forces between surfaces with nanoscale roughness // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2002. – Vol. 96, № 1. – P. 213–230.
66. Radmacher M., Tillmann R., Gaub H. Imaging viscoelasticity by force modulation with the atomic force microscope // *Biophysical Journal*. – 1993. – Vol. 64. – P. 735–742.
67. Raman A., Trigueros S., Cartagena A., Stevenson A., Susilo M. Mapping nanomechanical properties of live cells using multi-harmonic atomic force microscopy // *Nature Nanotechnology*. – 2011. – Vol. 6. – P. 809–814.
68. Royston T.J., Mansy H.A., Sandler R.H. Excitation and propagation of surface waves on a viscoelastic half-space with application to medical diagnosis // *J. Acoust. Soc. Am.* – 1999. – Vol. 106. – P. 3678–3686.
69. Royston T.J., Yazicioglu Y., Loth F. Surface response of a viscoelastic medium to subsurface acoustic sources with application to medical diagnosis // *J. Acoust. Soc. Am.* – 2003. – Vol. 113. – P. 1109–1121.
70. Schinagl R.M., Gurskis D., Chen A.C. Depth-dependent confined compression modulus of full-thickness bovine articular cartilage // *J. Orthop. Res.* – 1997. – Vol. 15. – P. 499–506.
71. Sedin D.L., Rowlen K.L. Adhesion forces measured by atomic force microscopy in humid air // *Analytical Chemistry*. – 2000. – Vol. 72, № 10. – P. 2183–2189.
72. Sinkus R., Siegmann K., Xdeas T., Tanter M., Claussen C., Fink M. MR Elastography of breast lesions: Understanding the solid/liquid duality can improve the specificity of contrast-enhanced MR mammography // *Magn. Reson. Med.* – 2007. – Vol. 58. – P. 1135–1144.
73. Sneddon I.N. *Fourier Transforms*. – New York: McGraw-Hill, 1951. – 650 p.
74. Sneddon I.N. The relation between load and penetration in the axis symmetric Boussinesq problem for a punch of arbitrary profile // *Int. J. Engng. Sci.* – 1965. – Vol. 3. – P. 47–57.
75. Sokolov I. Atomic force microscopy in cancer cell research // *Cancer Nanotechnology*. – 2007. – Vol. 1. – P. 1–17.
76. Sokolov I., Dokukin M. Mechanics of biological cells studied with atomic force microscopy // *Microscopy and Microanalysis*. – 2014. – Vol. 20, № 3. – P. 2076–2077.

77. Stifter T., Marti O., Bhushan B. Theoretical investigation of the distance dependence of capillary and van der Waals forces in scanning force microscopy // *Phys. Rev. B.* – 2000. – Vol. 62. – P. 13667–13673.
78. Suresh S., Spatz J., Mills J.P., Micoulet A., Dao M., Lim C.T., Beil M., Seufferlein T. Connections between single-cell biomechanics and human disease states: gastrointestinal cancer and malaria // *Acta Biomater.* – 2005. – Vol. 1, № 1. – P. 15–30.
79. Atomic force microscopy in nanobiology / ed. by K. Takeyasu. – Singapore: Pan Stanford Publishing, 2014. – 437 p.
80. Tranchida D., Piccarolo S. Local mechanical properties by atomic force microscopy nanoindentations // *Applied Scannin. Probe Methods XI. Part of the series Nanoscience and Technology.* – Berlin–Heidelberg: Springer, 2009. – P. 165–198.
81. World Health Statistics. – Geneva (CH): World Health Organization, 2013. – 172 p.
82. Zhu C., Bao G., Wang N. Cell mechanics: mechanical response, cell adhesion, and molecular deformation // *Annual Review of Biomedical Engineering.* – 2000. – Vol. 2, № 1. – P. 189–226.
83. Zhuravkov M., Drozd L., Romanova N., Krupoderov A. Mechanical-mathematical modelling of biological tissue behaviour // *Analytic Methods in Inter disciplinary Applications. Springer Proceedings in Mathematics & Statistics.* – 2015. – Vol. 116. – P. 153–181.
84. Zhuravkov M., Romanova N. Fractional viscoelastic models in biomechanics // *The First work shop on fractional calculus and its applications, Al-Ain, UnitedArabEmirates, 25–26 April, 2013.*
85. Zhuravkov M.A., Romanova N.S. Review of methods and approaches for mechanical problem solutions based on fractional calculus // *Mathematics and Mechanics of Solids.* – 2014. – Vol. 3. – P. 1–26. DOI: 10.1177/1081286514532934.

DETERMINATION OF PHYSICAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF BIOMATERIALS ON BASE OF THE NANOINDENTATION TECHNOLOGIES AND FRACTIONAL ORDER MODELS

M.A. Zhuravkov, N.S. Romanova (Minsk, Belarus)

The paper included the results of theoretical and applied research on topical issues of the development of high-performance analytical and experimental methods to evaluate the physical and mechanical properties of biomaterials and biological structures based on nanoindentation techniques and atomic force microscopy. We conduct the analysis of some mechanical and mathematical models which are constructed to solve such difficult problems as the choice/design of mechanical-mathematical model, as the determination of the moment of embedded indenter into an object and accounting for physical and mechanical properties of biological structures in the represented techniques on nanoscale level. Adequacy of the use of fractional order derivatives to construct mechanical-mathematical models of the estimation of physical and mechanical properties of biomaterials is shown in this work. Results of hemorheological modifications study due to changes in the physicommechanical properties of erythrocytes under the influence of coronary heart disease, acute coronary syndrome are presented in this paper. The effectiveness of ultraviolet modifications and extracorporeal blood autohemomagnetotherapy for real patients is shown.

Key words: physical and mechanical properties of red blood cells (erythrocytes), hemorheological modifications, fractional order viscoelasticity model, ultraviolet blood modification and extracorporeal autohemomagnetotherapy, acute coronary syndrome.

Получено 14 марта 2015