

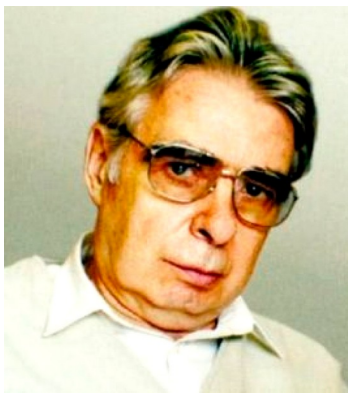
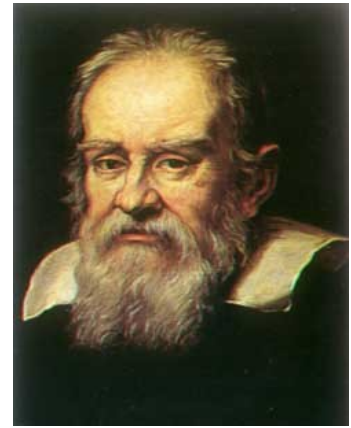


Пространственно-временные изменения  
атомно-молекулярной архитектуры  
костной ткани: *закономерности  
возрастных и патогенных изменений*

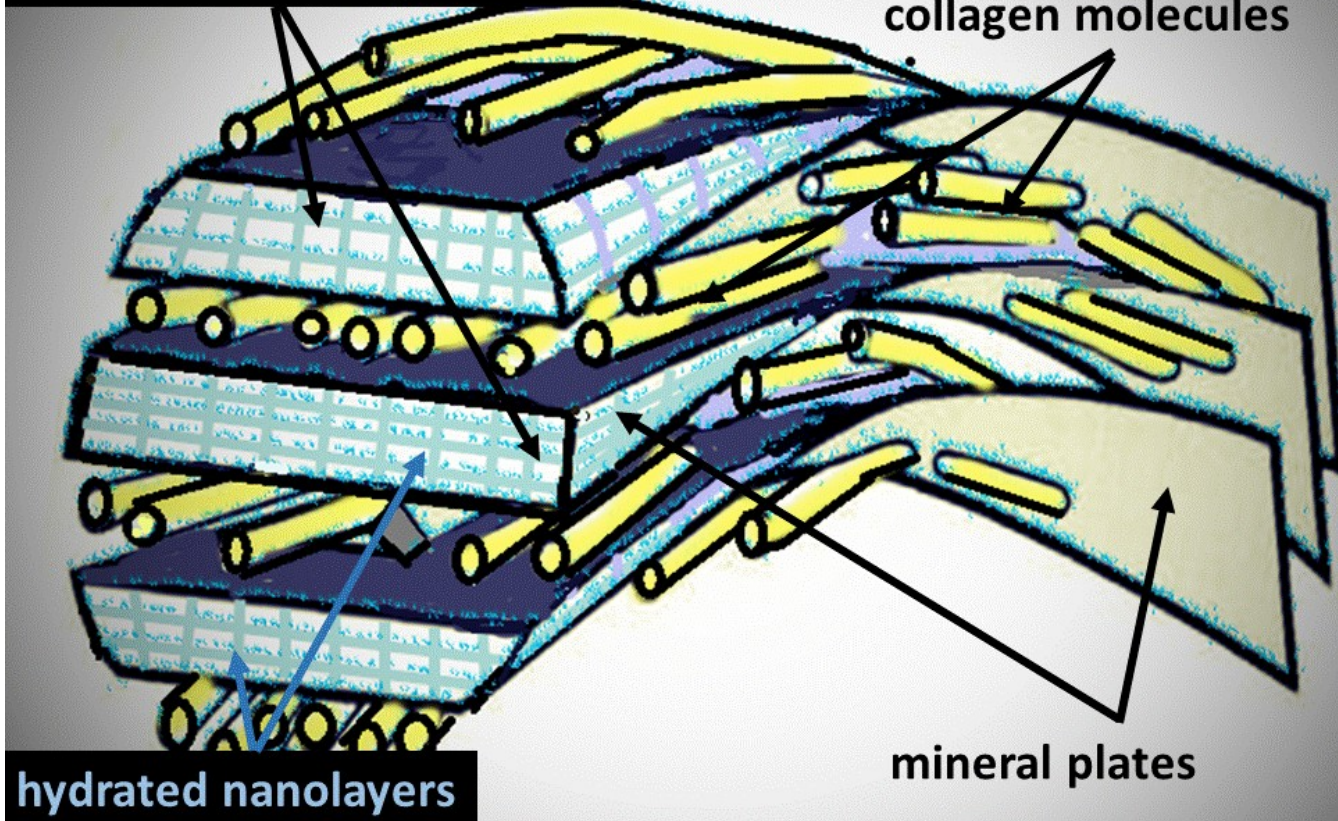
Павлычев Андрей Алексеевич,

д.ф.-м.н., проф., Санкт-Петербургский Государственный Университет

# закономерности возрастных и патогенных изменений



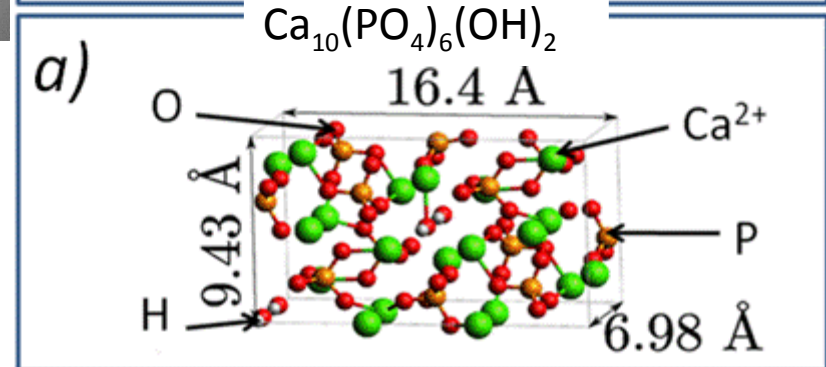
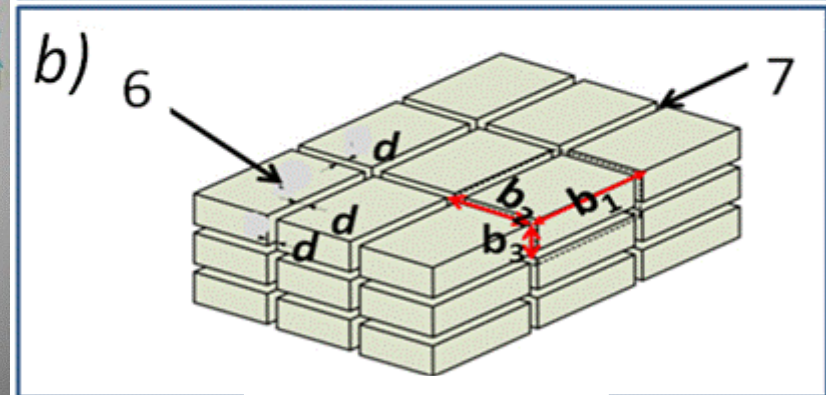
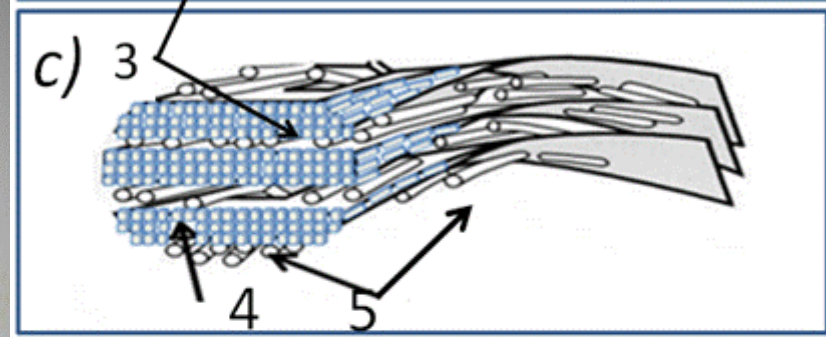
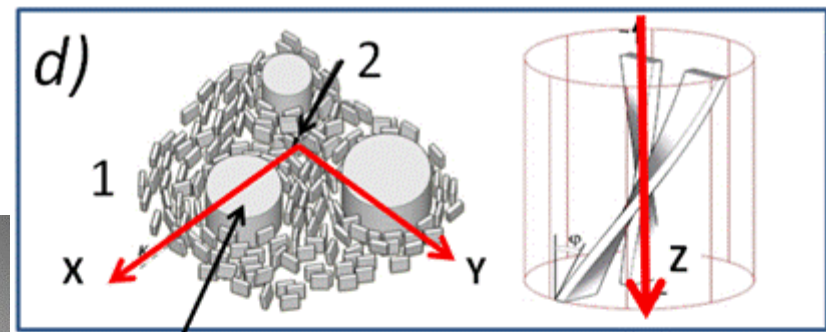
bioapatite nanocrystallites



hydrated nanolayers

mineral plates

Ю.И. Денисов-Никольский и др., Актуальные проблемы теоретической и клинической остеологии. М., Новости, 2005



# 1. Введение и актуальность исследования атомно-молекулярной архитектуры костной ткани

- медицинская визуализация на субклеточном уровне; управление возрастными изменениями и регенерация в костной ткани
- технологии конструирования биосовместимых материалов; создание экологически чистых материалов для аккумуляции и преобразования электрической энергии и ....

# 2. Объекты исследования

- для возрастных изменений
- ОА

# 3. Комбинация методов исследования

# 4. Результаты и выводы:

- возрастные изменения
- остеоартритные изменения

# 5. Перспективы



## Направления исследований

- медицинской визуализации на субклеточном уровне, управления возрастными изменениями и регенерация в костной ткани
- конструировании экологически чистых материалов для аккумуляции и преобразования электрической энергии

Основные экспериментальные методы:

- XRD
- XPS
- Raman
- NEXAFS

Основной метод теоретических исследований

- 3DSL модель

Пространственно-временные изменения атомно-молекулярной архитектуры:

- возрастные изменения
- остеоартритные изменения

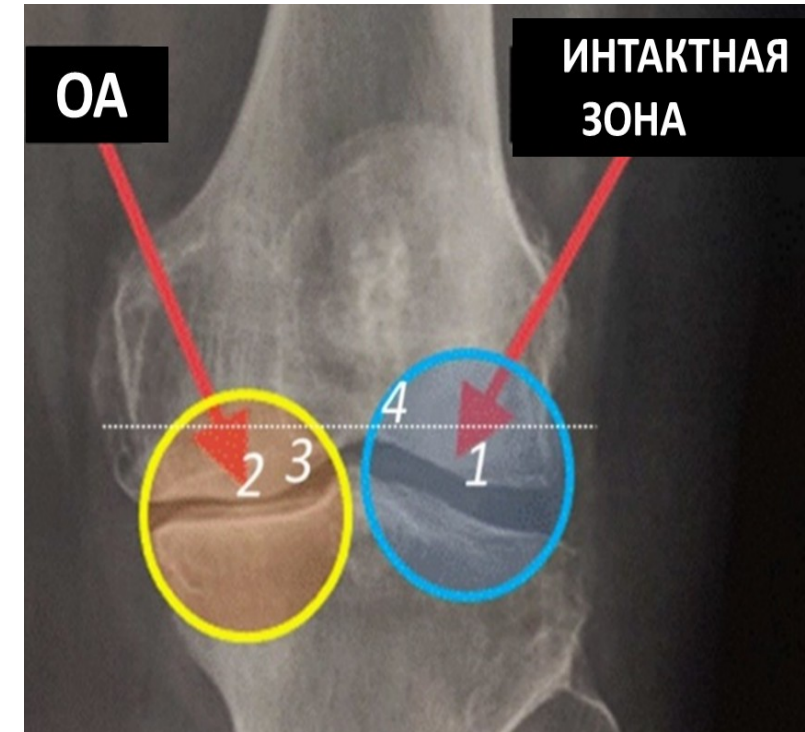
# Образцы

**Группа (I):** спилы мыщелков бедренной и большеберцовой кости при артропластике поврежденного ОА коленного сустава человека.

**Пробоподготовка** Образцы очищались от хрящевой ткани с помощью щадящей механической обработки скальпелем до субхондральной костной пластинки. С целью обезжиривания и вымывания миелоидного содержимого из трабекул губчатого слоя, в течение 4 суток образцы замачивались в ванночке с водным 33% раствором пероксида водорода ( $H_2O_2$ ), смешанного в пропорции 1 к 1 с горячей водой ( $60^\circ C$ ) и добавлением 5 мл 10% водного раствора гидроксида аммония ( $NH_4OH$ ). Ежедневно проводилась замена данного раствора. Далее в течение суток костные образцы замачивались в дистиллированной воде, с заменой жидкости в ванночке каждые 6-9 часов с целью завершения процесса химической очистки спилов.

**Группа (II):** кортикальный слой средней трети бедренных, большеберцовых и плечевых костей 6 (для каждого возраста) белых здоровых беспородных новорожденных крыс весом 50 – 80 грамм, взрослых (120 – 150 грамм) и зрелых крыс (250 – 280 грамм).

**Пробоподготовка** Для проведения измерений кортикальный слой был тщательно очищен от мягких тканей, промыт в физиологическом растворе, высушен фильтровальной бумагой, после чего растерт в фарфоровой ступке до частиц диаметра  $\approx 1$  мкм.

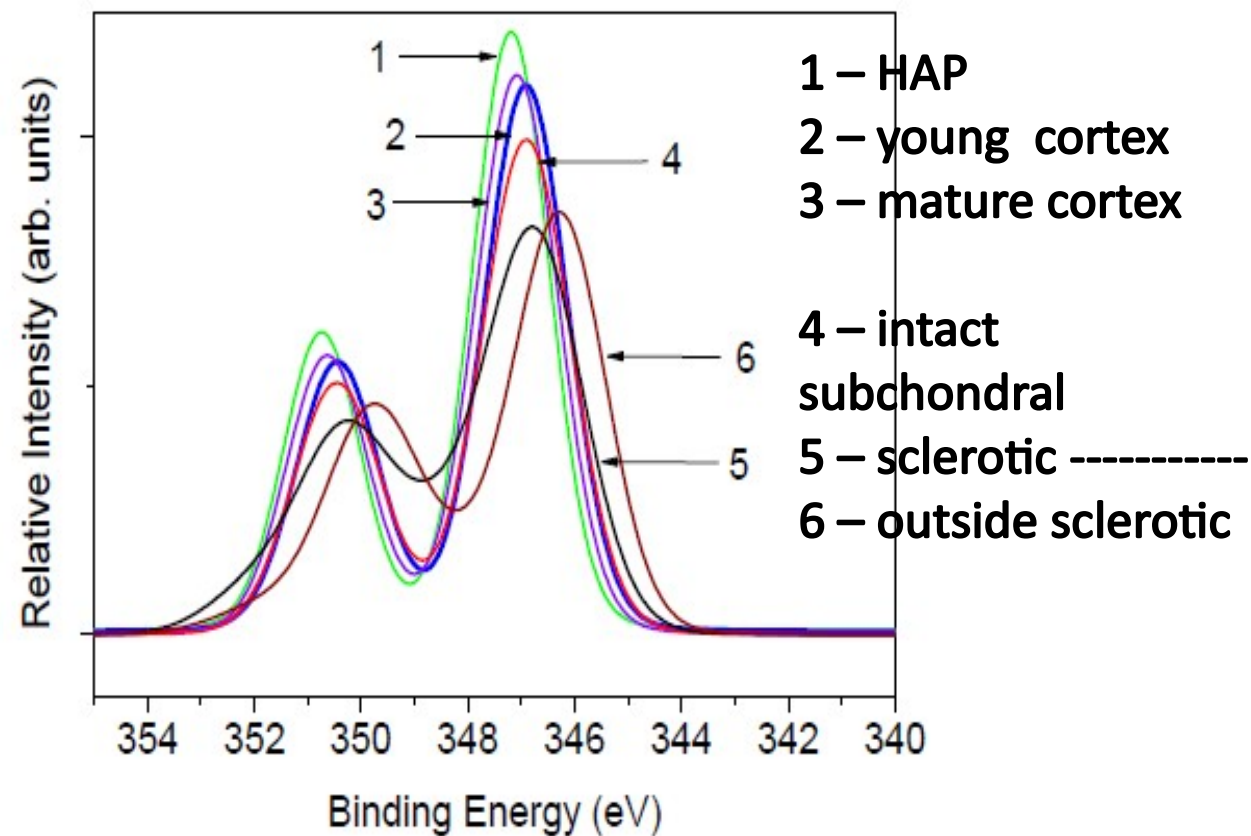




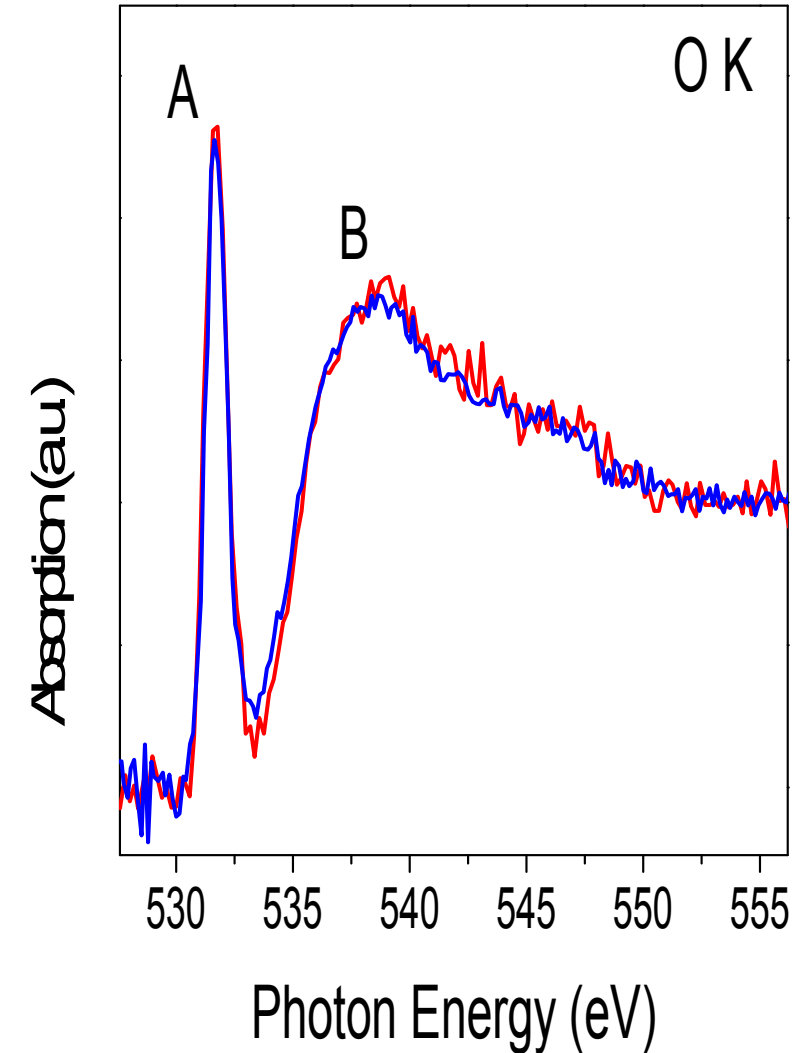
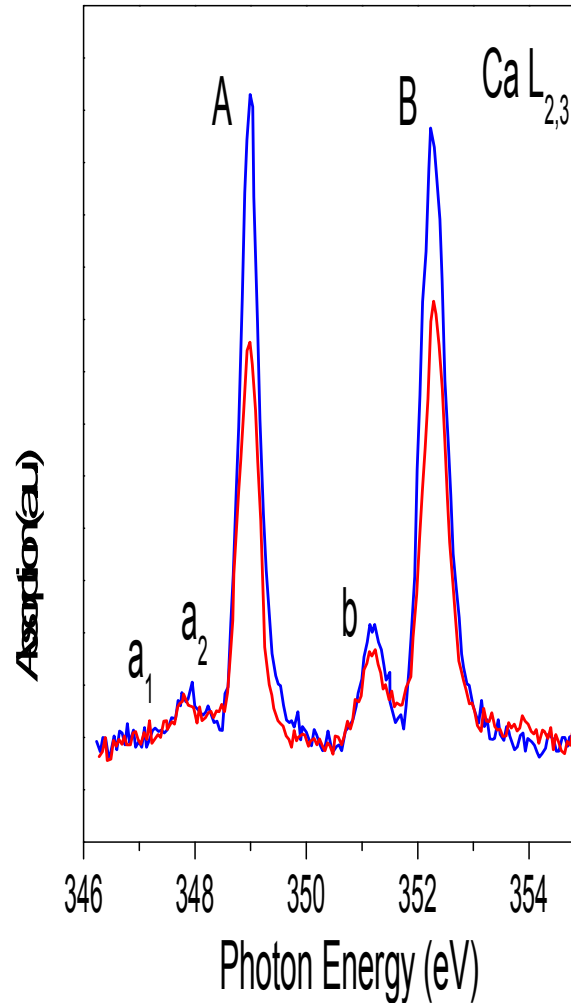
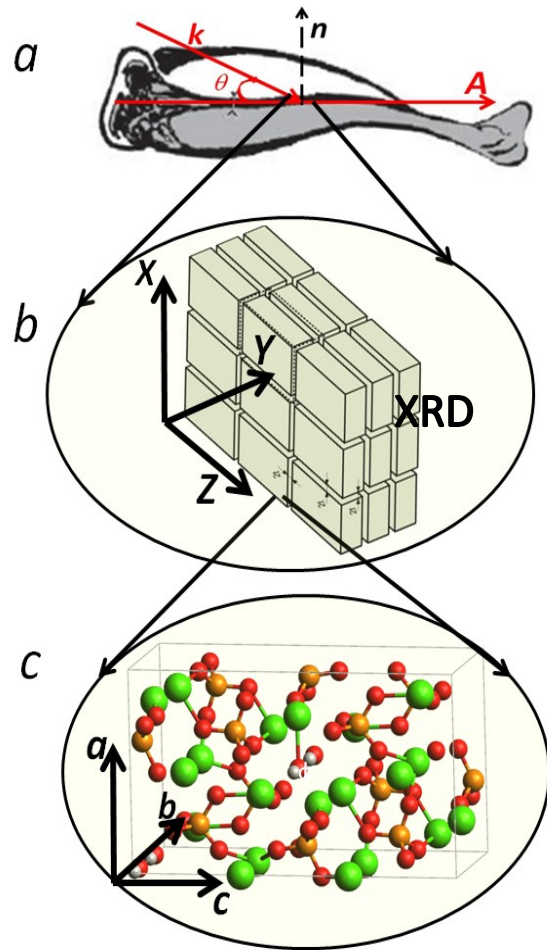
## XRD:

## XPS:

пространственно-временные изменения параметров



## NEXAFS: X-ray absorption: Linear dichroism: cortical bone

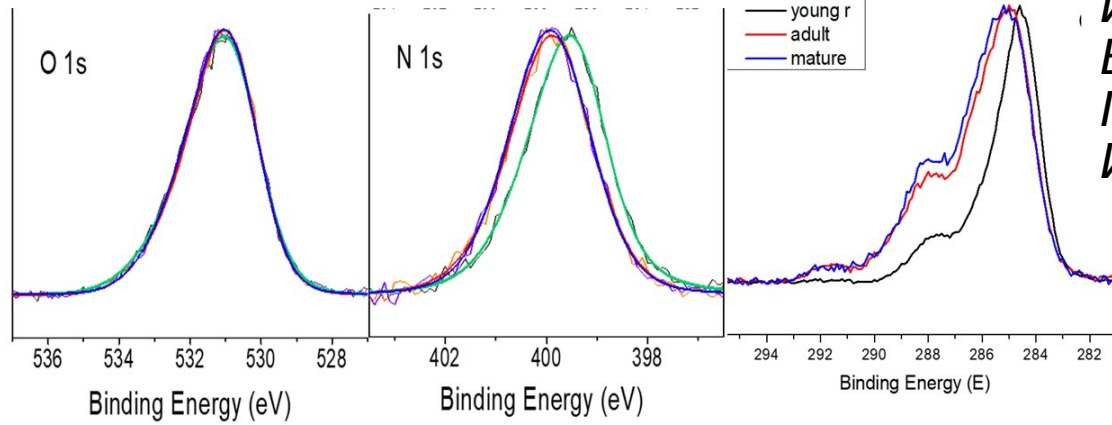
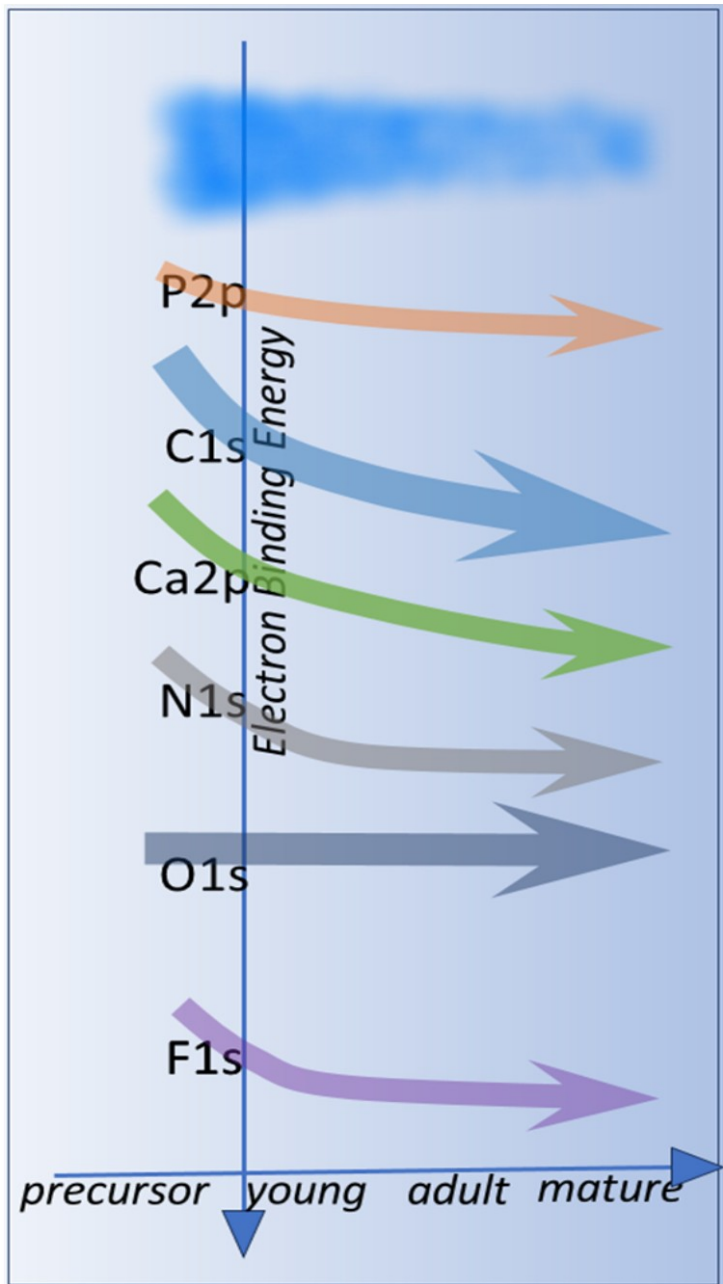




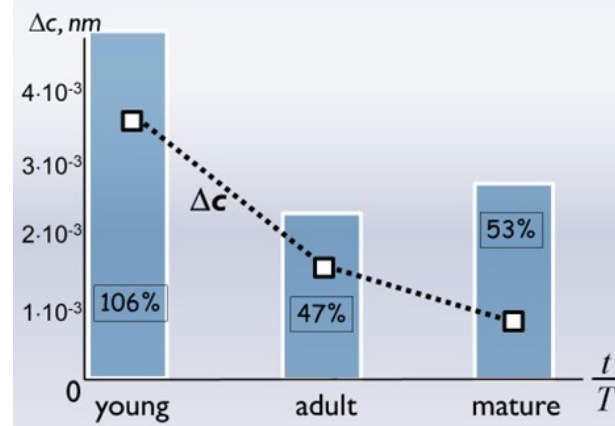
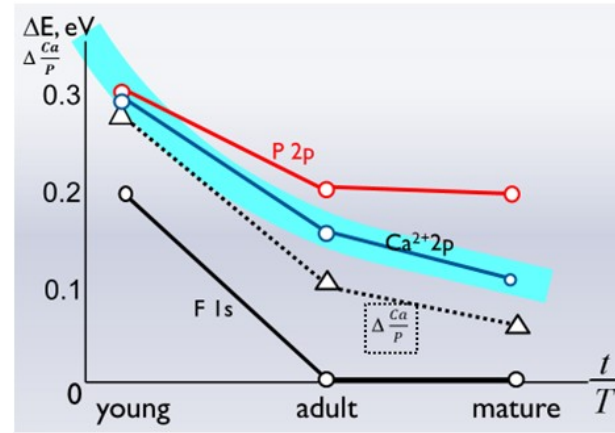
# Возраст

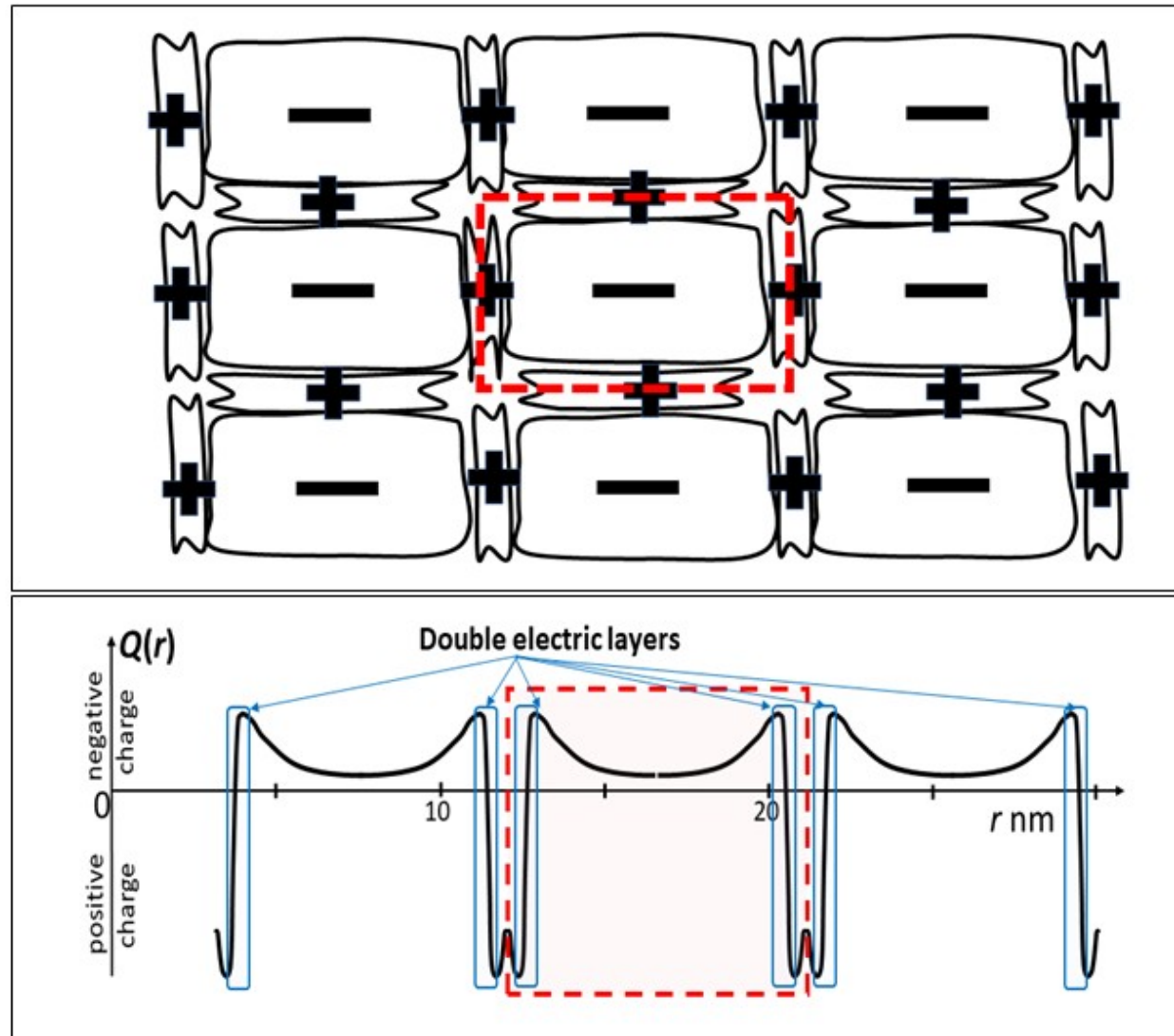
## ЗАКОНОМЕРНОСТЬ И ВОЗРАСТНЫХ И ПАТОГЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ

Characteristics	Apatite	Young	Adult	Mature
Degree of crystallinity D, %	100	84	97	96
ratio	1.67	1.38	1.56	1.6
HAP-to-bone difference: D		0.29	0.11	0.07
Lattice constant: a , nm	0.9418	0.9413	0.9388	0.9396
Lattice constant: c , nm	0.6884	0.6849	0.6871	0.6875
HAP-to-bone stress Delta a, nm	--	0.0005	0.003	0.0022
HAP-to-bone stress Delta c, nm	--	0.0035	0.0013	0.0009
Ca 2p <sub>3/2</sub> BE, eV	347.2	346.9	347.05	347.1
FWHM , eV	1.6(1.51)	1.8	1.8	1.8
HAP-to-bone:				
Energy shift Delta	--	0.3	0.15	0.1
broadening D	--	0.2	0.2	0.2
P 2p <sub>3/2</sub> BE , eV	133.1	132.8	132.9	132.9
FWHM , eV	1.6	1.7	1.65	1.65
HAP-to-bone				
energy shift Delta	--	0.3	0.2	0.2
broadening Delta	--	0.1	0.05	0.05
O 1s cumulative BE , eV	531.05	531.04	531.02	531.04
FWHM , eV	2.1	2.45	2.37	2.40
HAP-to-bone	--			
energy shift D , eV		0.01	0.03	0.01
broadening D		0.35	0.27	0.3



ЗАКОНОМЕРНОСТЬ  
И  
ВОЗРАСТНЫХ И  
ПАТОГЕННЫХ  
ИЗМЕНЕНИЙ





Young bone

$0.7\text{eV}/100\text{nm}^3$

$>10^6(\text{Дж}/\text{м}^3)$

Mature bone

$0.1\text{eV}/170\text{nm}^3$

$<10^5(\text{Дж}/\text{м}^3)$

bioapatite nanocrystallites

collagen molecules

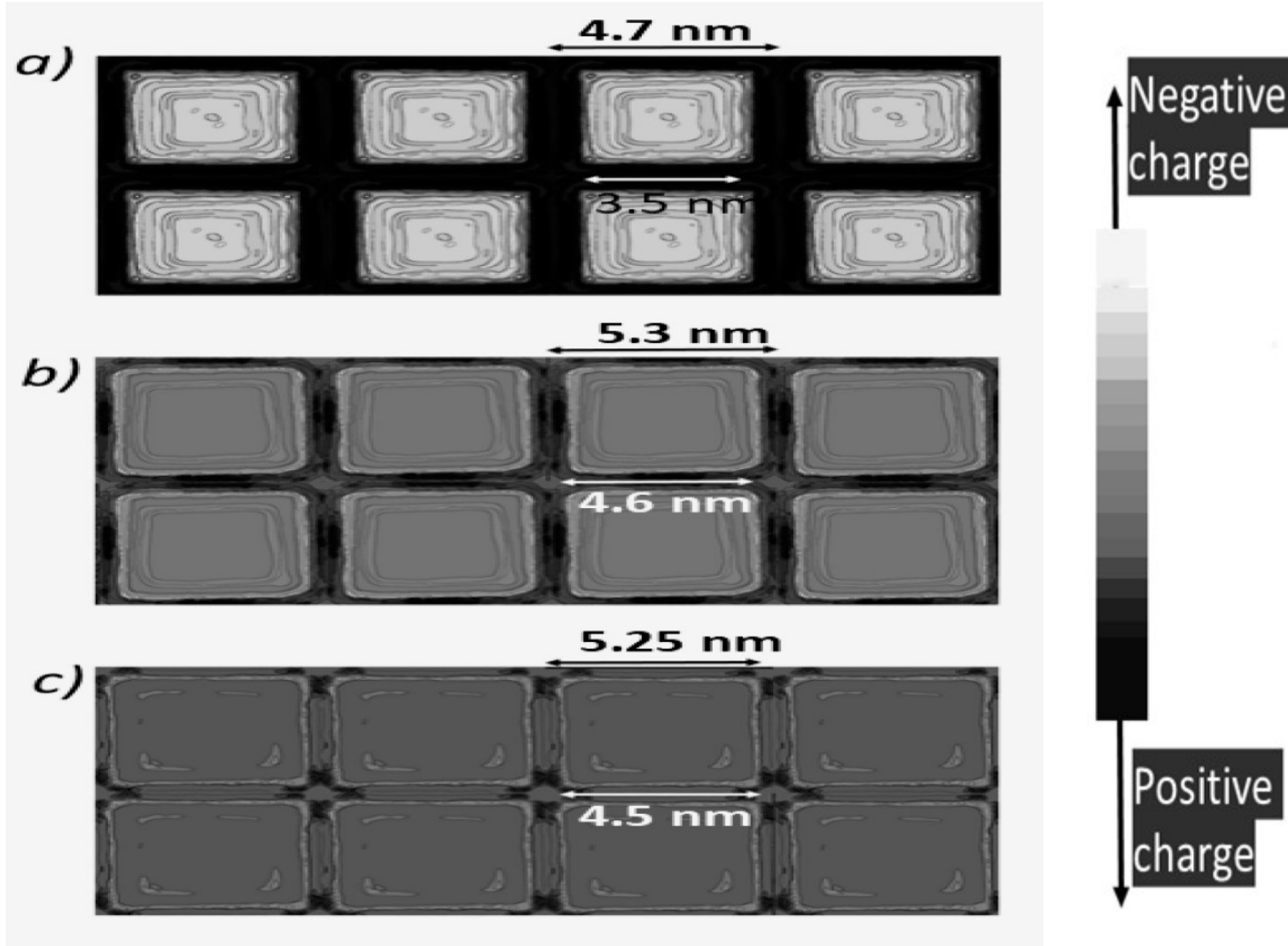
hydrated nanolayers

mineral plates

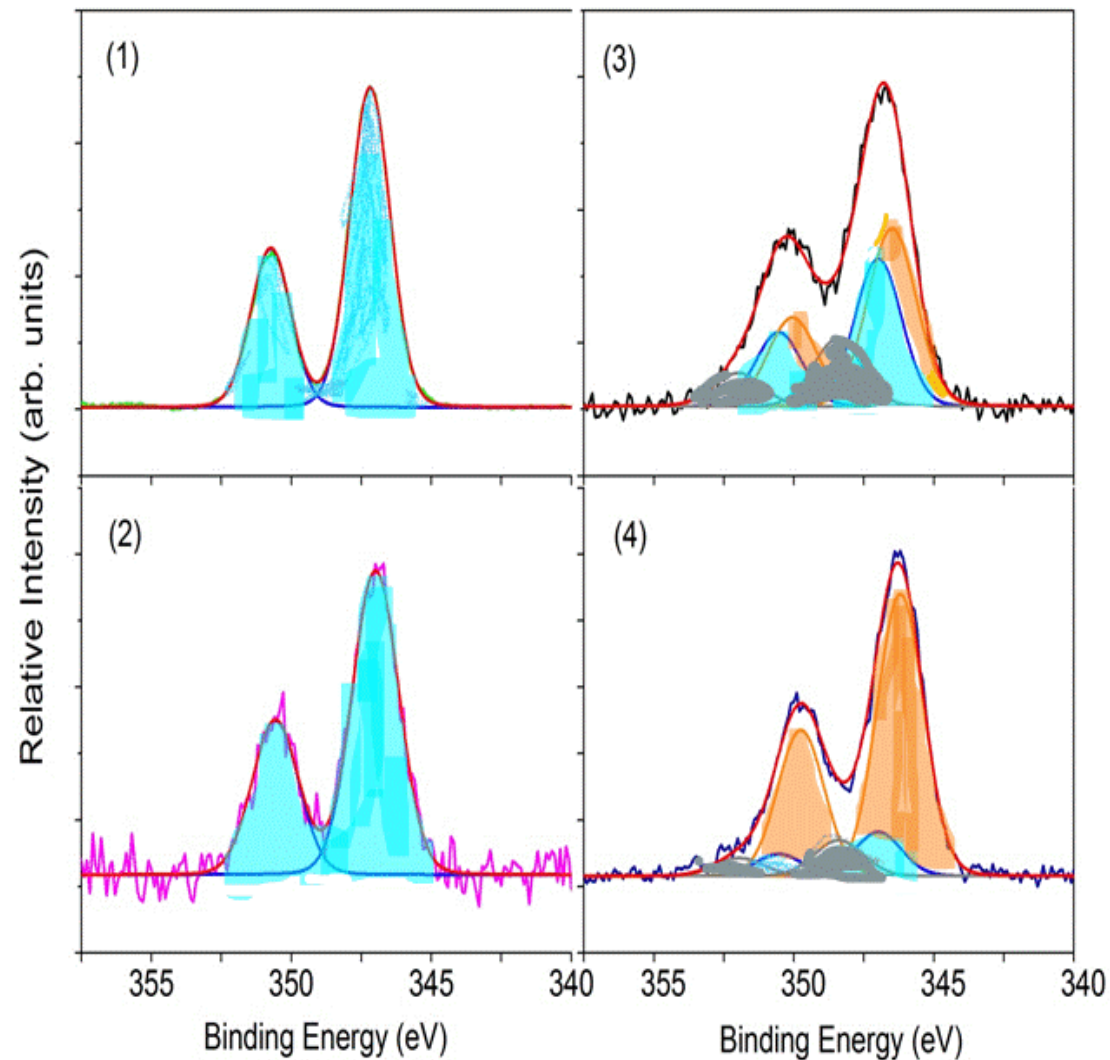
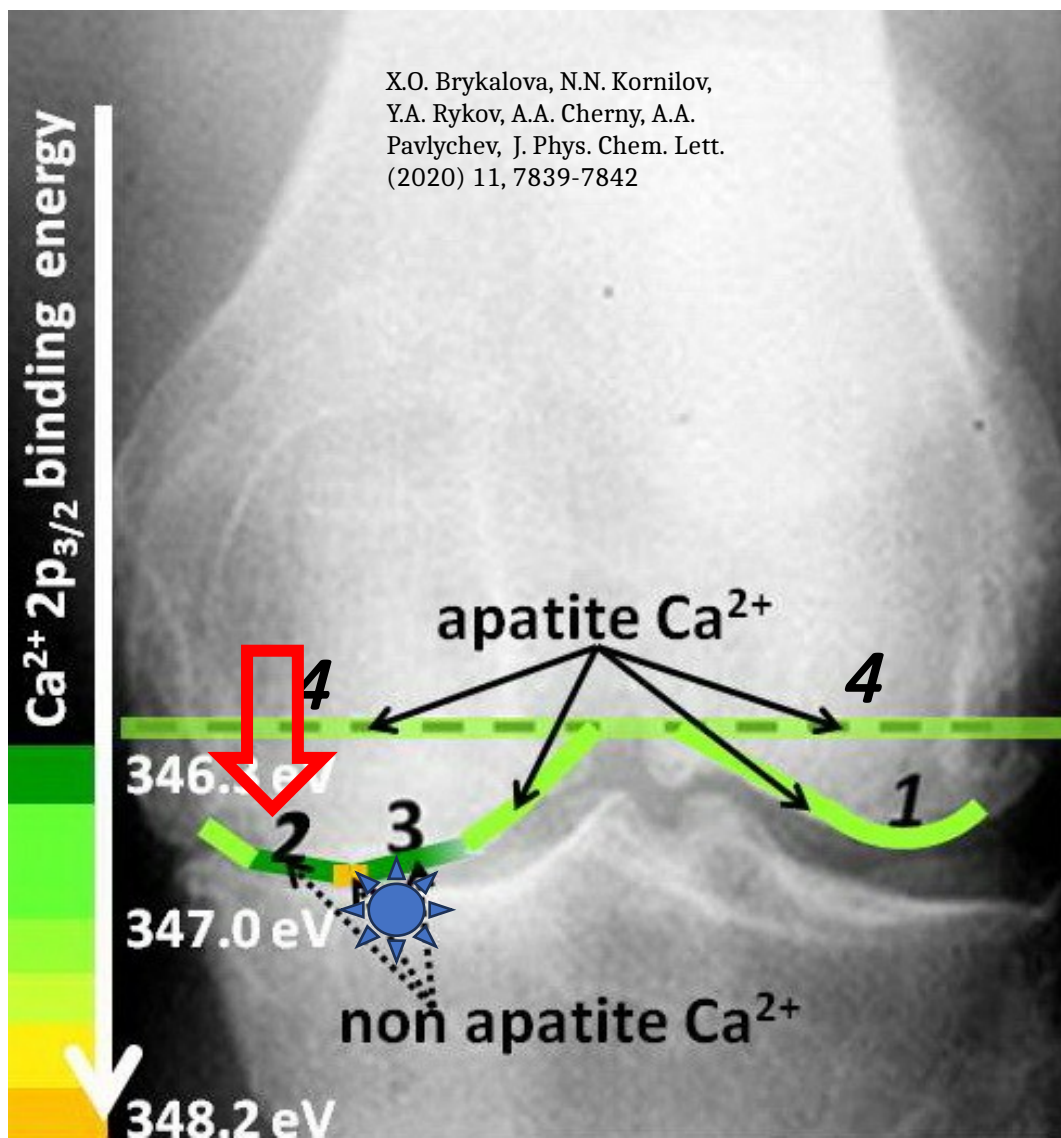


# Заряд нанозлементов в зависимости от возраста в копланарных внутрифибрилярных конгломератах нанокристаллитов

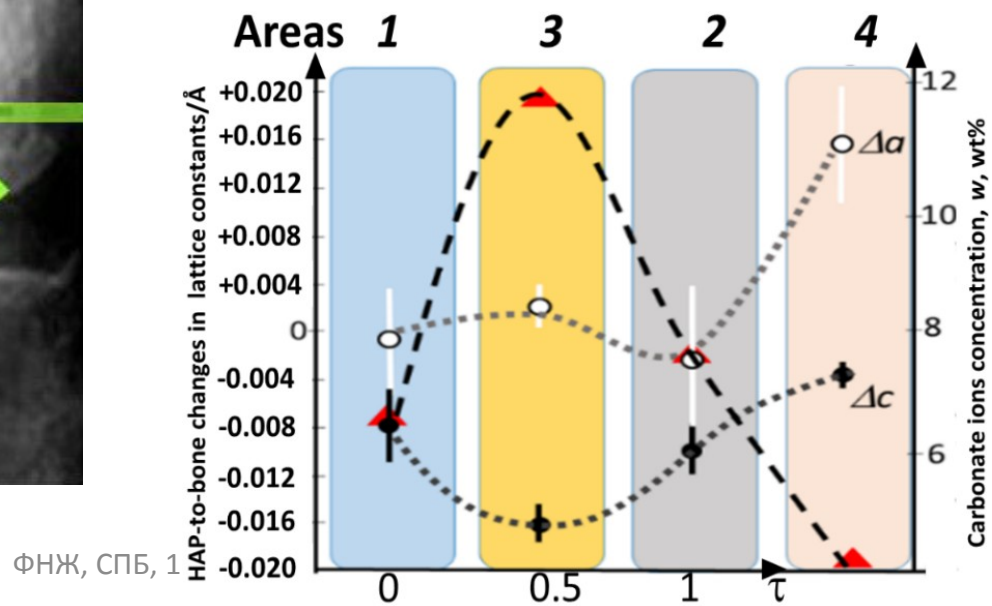
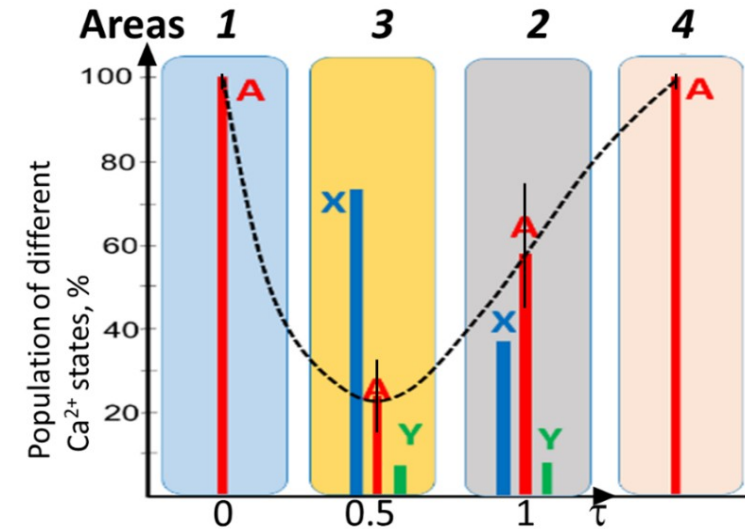
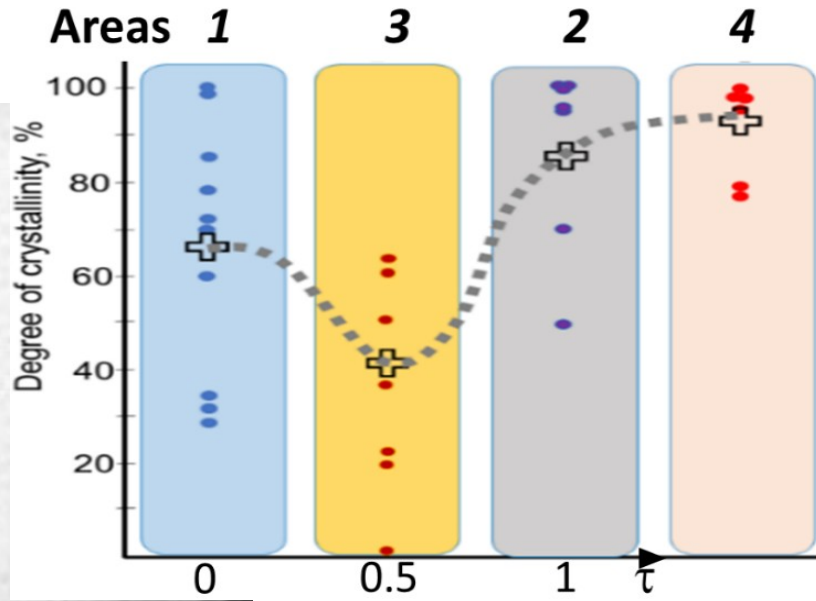
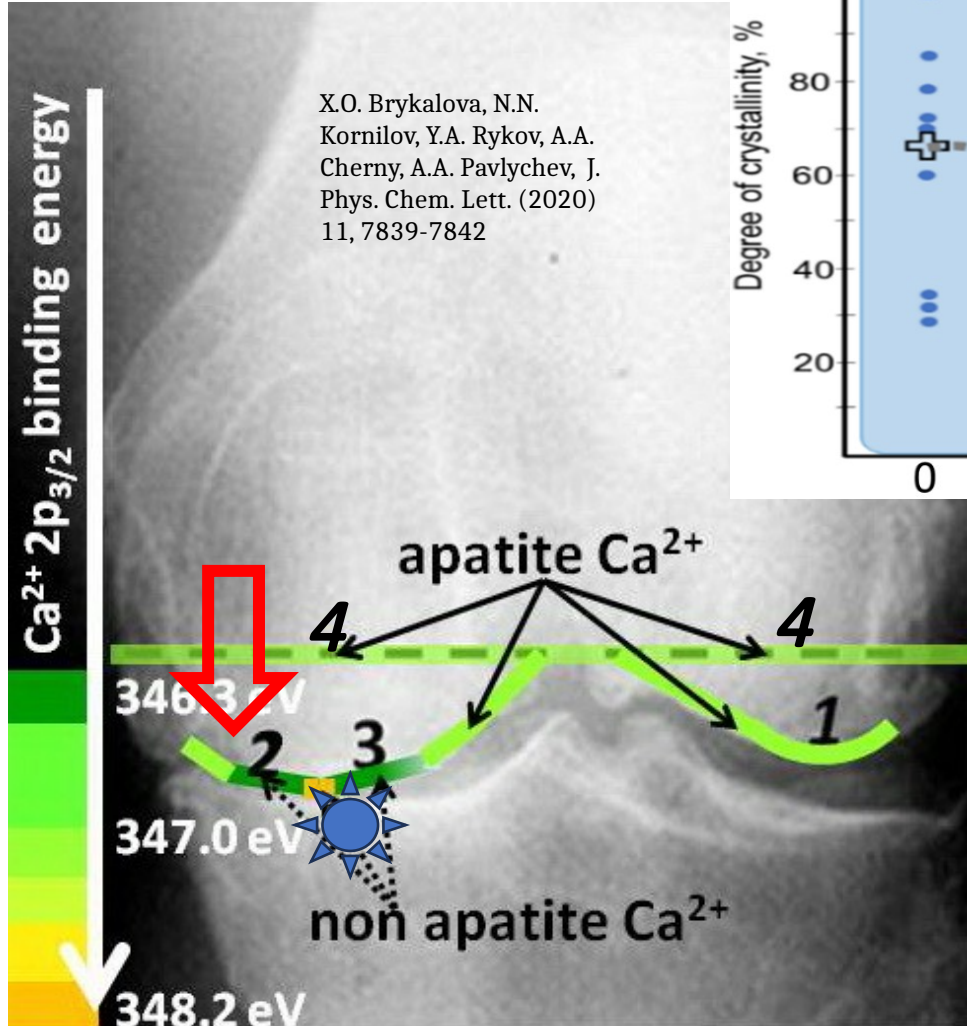
ЗАКОНОМЕРНОСТЬ И ВОЗРАСТНЫХ И ПАТОГЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ



Xenia Brykalova, Nikolai Kornilov and Andrey Pavlychev, *J. Mater. Chem. A*, 2022, 22686-22693



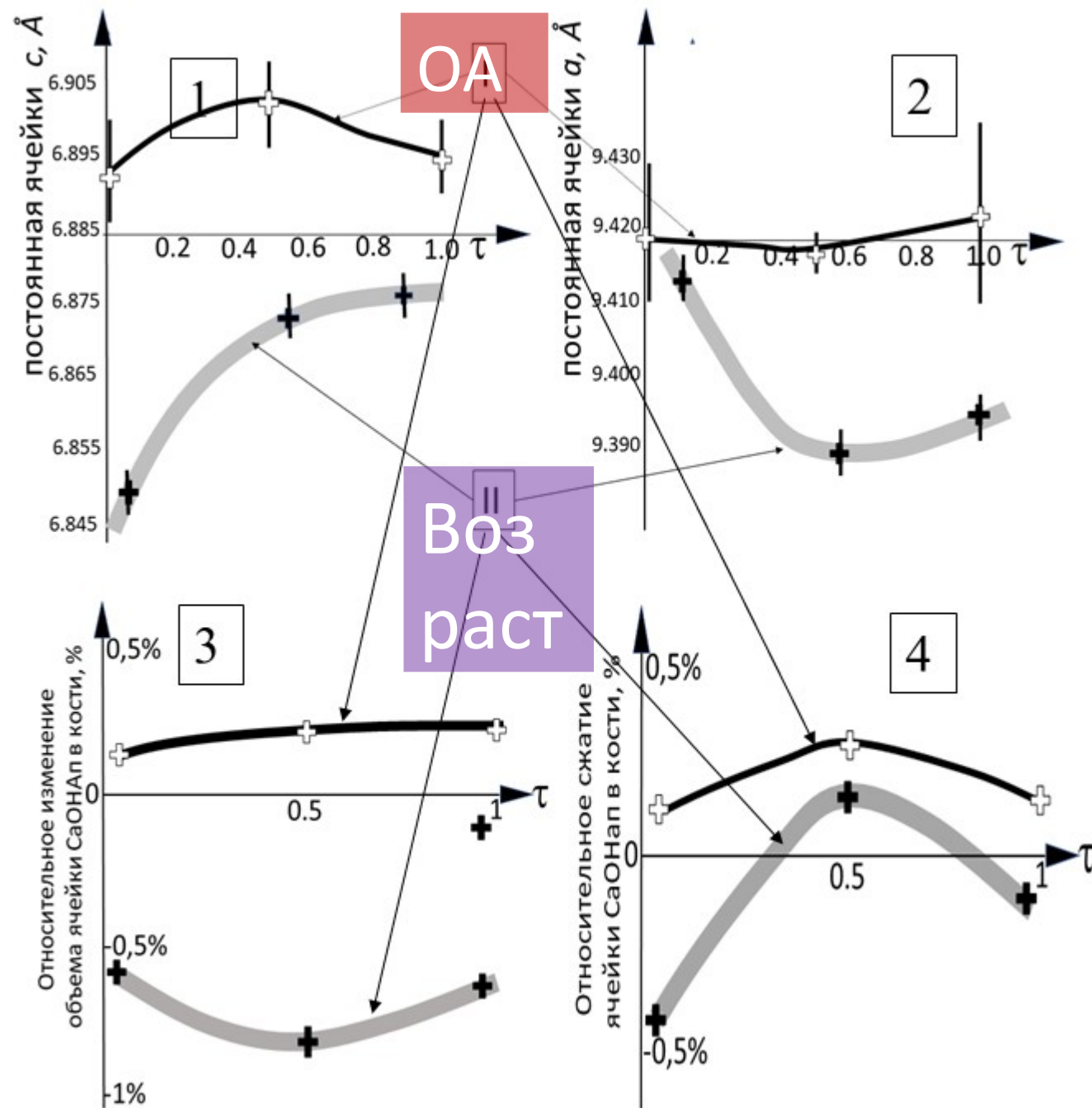
# ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВОЗРАСТНЫХ И ПАТОГЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ





ОА (I)

Воз  
раст  
(II)





# П Е Р С П Е К Т И В Ы

- Развитие концепции «Активного долголетия» и повышение качества жизни.
- Преодоление последствий COVID-19.
- Новые методы регенерации костной ткани и функционализации ее механических свойств.
- Новые методы природоподобного (остеомиметического) конструирования экологически чистых материалов

## Соавторы данного исследования

**к. ф.-м.н. К.О. Брыкалова<sup>1</sup>,**

**асп. А.В. Корнеев<sup>1</sup>,**

**проф. д.м.н. Н.Н. Корнилов<sup>2</sup>,**

**К. м.-н. А.А. Черный<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> СПбГУ, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., 7/9

<sup>2</sup> НИИМЦ «Травматологии и Ортопедии», Санкт-Петербург,  
195427, Байкова, 8

ААП, КОБ, ААЧ и АВН благодарят за финансовую поддержку  
Российский Научный Фонд,  
грант РНФ 23-29-00172.

**Спасибо за внимание !**



# ЗАКОНОМЕРНОСТИ пространственно-временных изменения атомно-молекулярной архитектуры (АМА) *при ОА условиях*

- Наиболее сильные изменения АМА костной ткани наблюдаются при взаимодействии поврежденной хрящевой ткани с минерализованной фазой в результате *каталитических реакции* на межфазовой границе «поврежденный хрящ – минерал» (зона **2**) определяют изменения минерализованной фазы;
- В зоне склерозирования **3** идет восстановление минерализованной фазы;
- В отличии от трабекулярной **4**, в субхондральной кости наблюдается анизотропное объемное сжатие кристаллической ячейки гидроксилапатита кальция, которое максимально в зоне склерозирования **3**;
- Появление «неапатитных» состояний катиона  $\text{Ca}^{2+}$  - маркер патогенных нарушений минерализованного матрикса;
- Максимальная концентрация анионов  $\text{CO}_3^{2-}$  достигается в зоне склерозирования **3**.



# Пространственно-временные изменения

атомно-молекулярной архитектуры костной ткани.....

## The 3D superlattice of “black boxes in muddy waters”

$$e^{2ikb_j} - 2 \operatorname{Re} \left( \frac{1}{T(E; \langle \mathbf{d} \rangle, \langle \mathbf{L} \rangle_j)} \right) e^{ikb_j} + 1 = 0$$

$b_j$  – the basic translation vectors of superlattice

$T$  – the amplitude of electron transmission through the supercell;

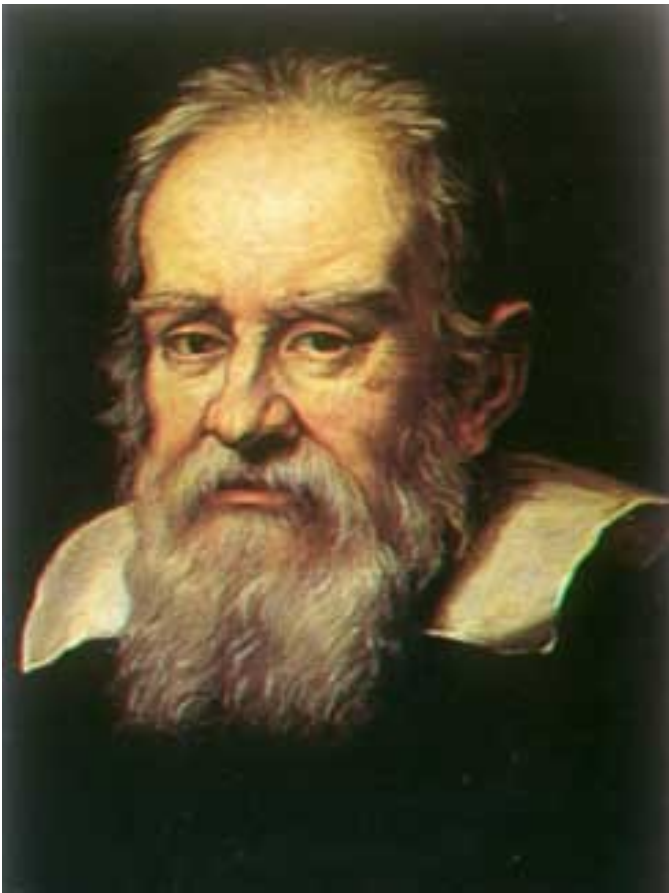
$E = \kappa^2$  – electron energy, a  $k$  – wave number in superlattice.

Predictions: minibands, red shifts  $\delta E_n$ , band narrowing,  
size-dependent quantum states (SDQS)

$E_n$  band energy in HAP,  $d$  is the thickness of the nanolayer

$L = NR$  – characteristic size of nanocrystallite,

$$\delta E_n \approx \frac{2E_n d}{NR}$$



15.02. 1564 --- 8.01. 1642,  
Duchy of Florence

Important for understanding the theoretical foundations of skeletal biomechanics are the studies of **Galileo Galilei**. He showed that a hollow tube (diaphysis of a bone) is much stronger than a full-bodied cylinder of the same length and mass.

[Galileo Galilei, Dialogues concerning two new sciences [1638] Translated from the Italian and Latin into English by Henry Crew and Alfonso de Salvio. With an Introduction by Antonio Favaro (New York: Macmillan, 1914). The Macmillan co. of Canada, Ltd. Toronto 2010, 232 s.].



**Julius Wolff** (21.03.1836 - 18.02.1902, Berlin) proposed a new paradigm, according to which the spatial organization of bone structures corresponds to and is determined by mechanical loads arising in the process of performing locomotor functions against the forces of gravity

[Wolff J. Das Gesetz der Transformation der Knochen. A Hirschwald, Berlin, 1892. p. 162]



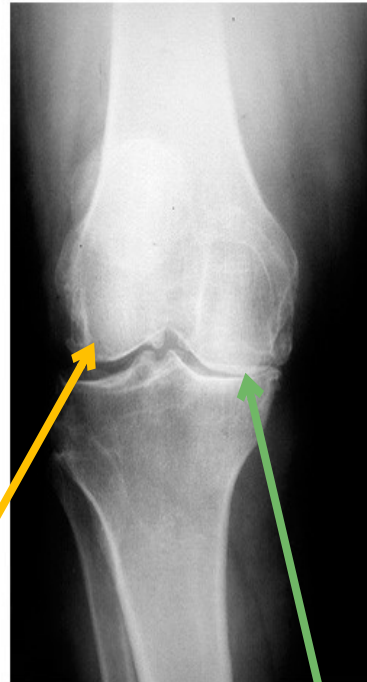


# Osteoarthritis



Нормальный коленный сустав

Intact area



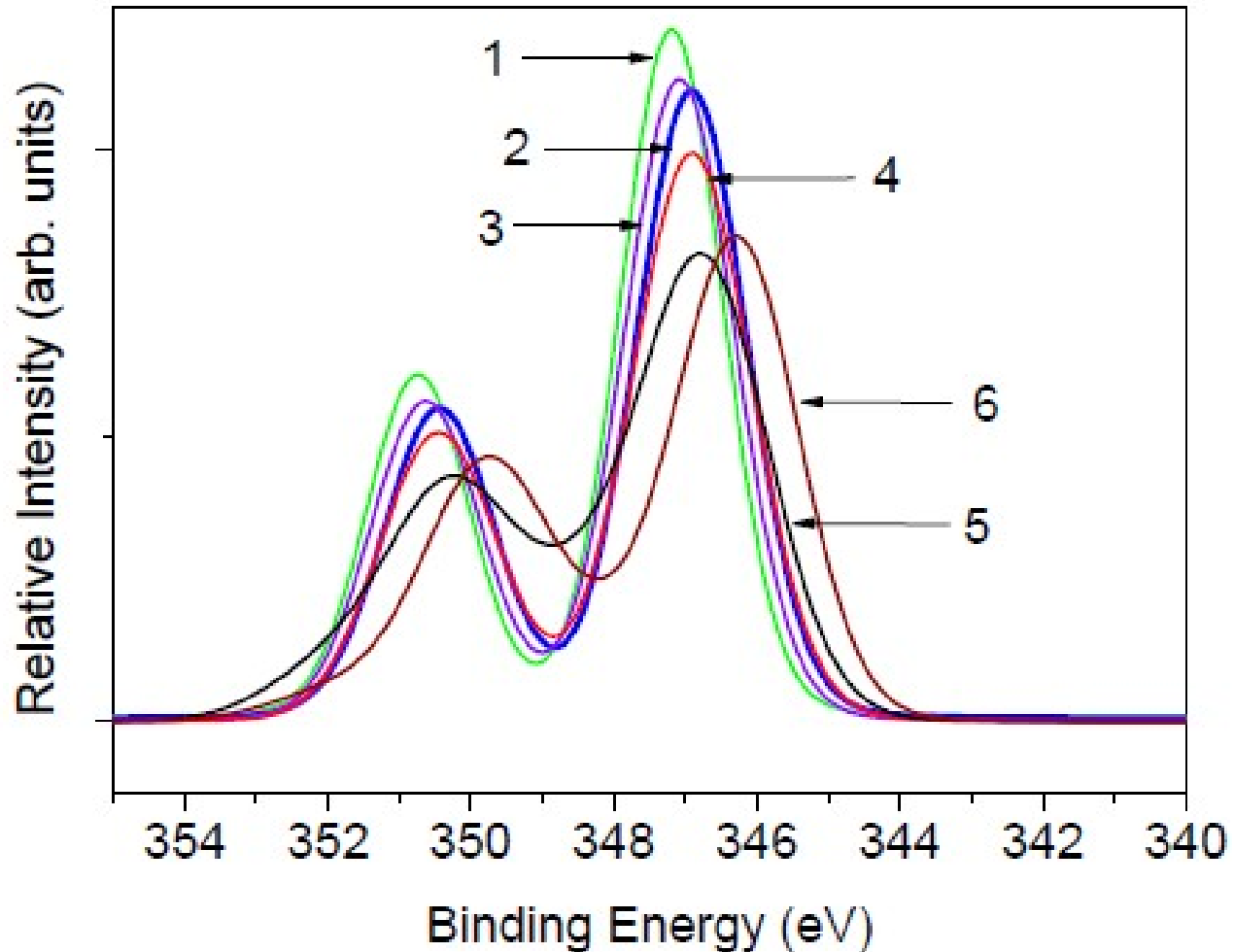
Коленный сустав, пораженный артрозом

Sclerosed bone area

In modern medicine, problems associated with the skeletal pathology are of great socio-economic importance associated, in particular, with the costs aimed at treatment, rehabilitation, care for patients with osteoarthritis and the consequences of osteoporosis. For instant, osteoarthritis is the fourth most common cause of hospitalization.



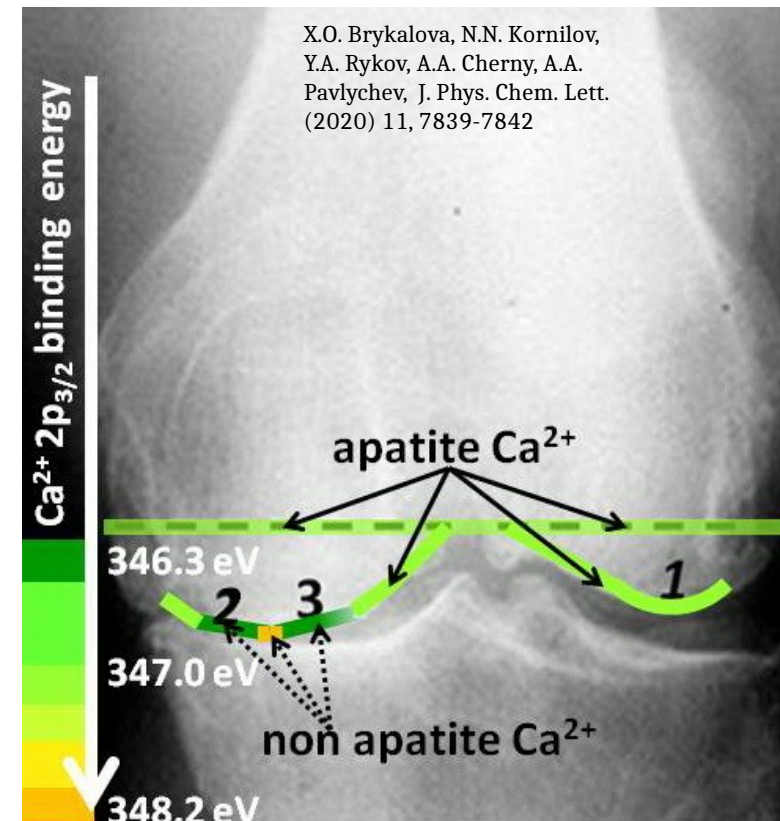
# Ca 2p PE spectra of bone tissue: comparison



- 1 – HAP
- 2 – young cortex
- 3 – mature cortex
- 4 – intact subchondral
- 5 – sclerotic -----
- 6 – outside sclerotic

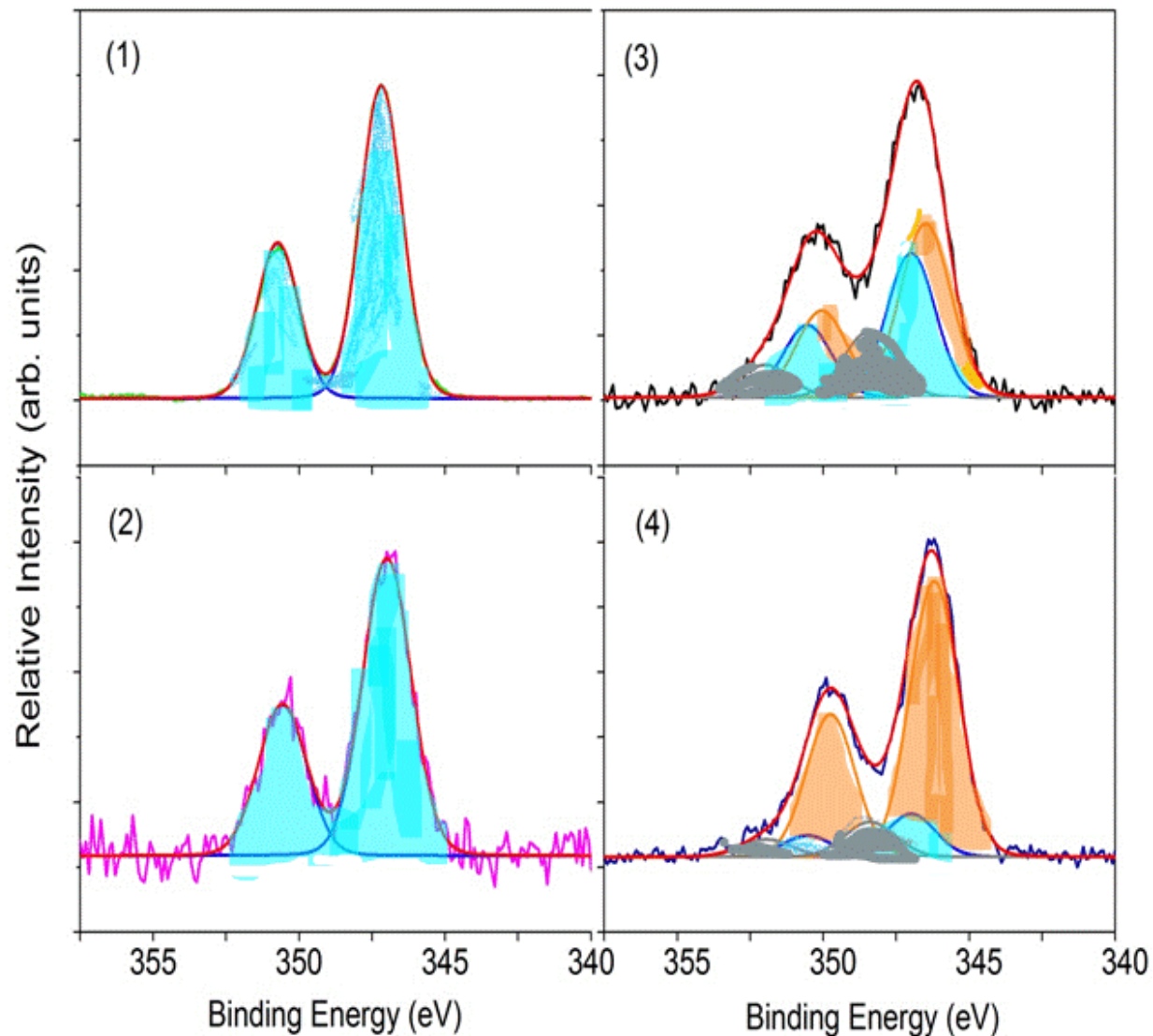
OA

Intact/health



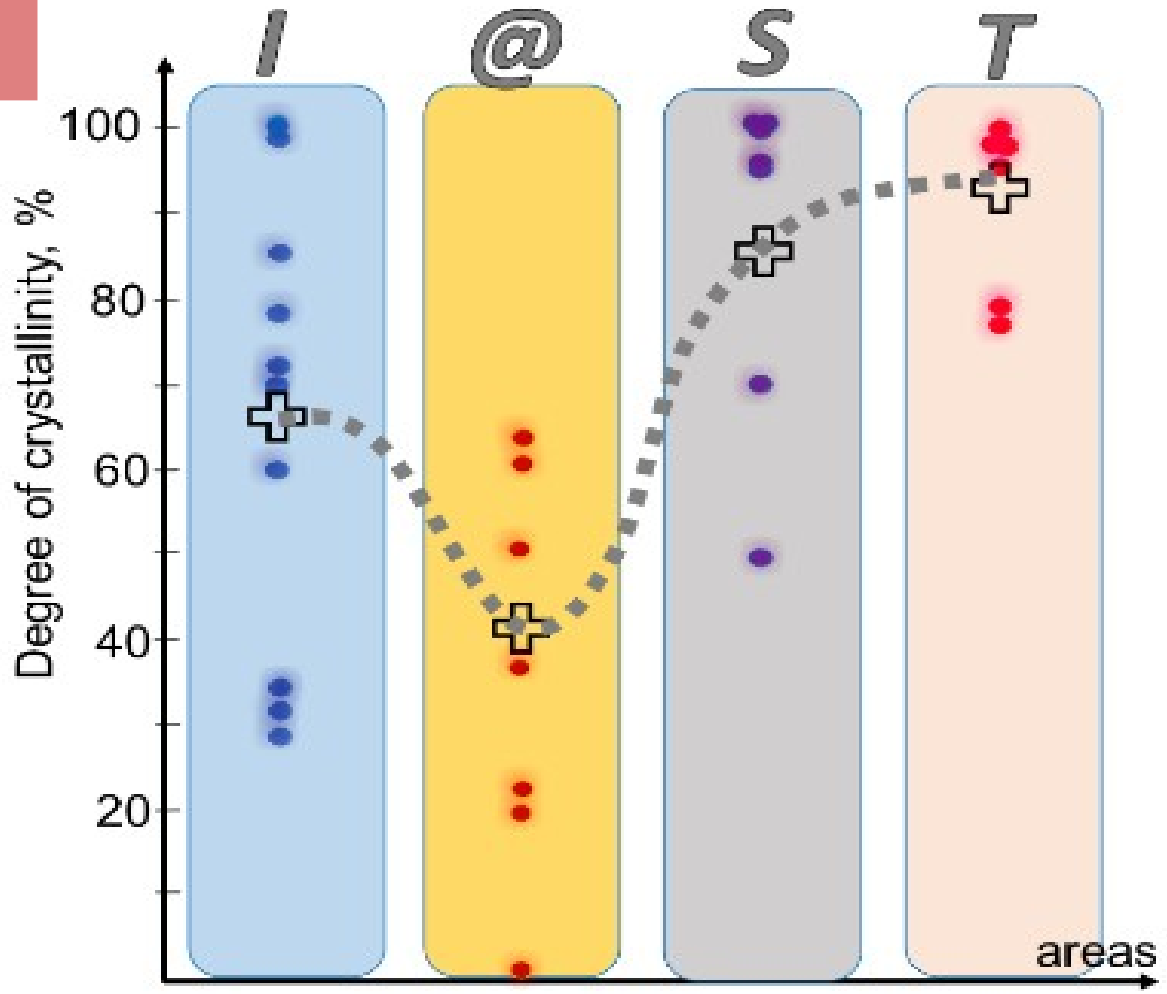
Site dependent changes in

- 1) core-electron binding energies,
- 2) chemical composition,
- 3) valence structure,
- 4) degrees of crystallinity,
- 5) crystallographic constants of apatite cell and others

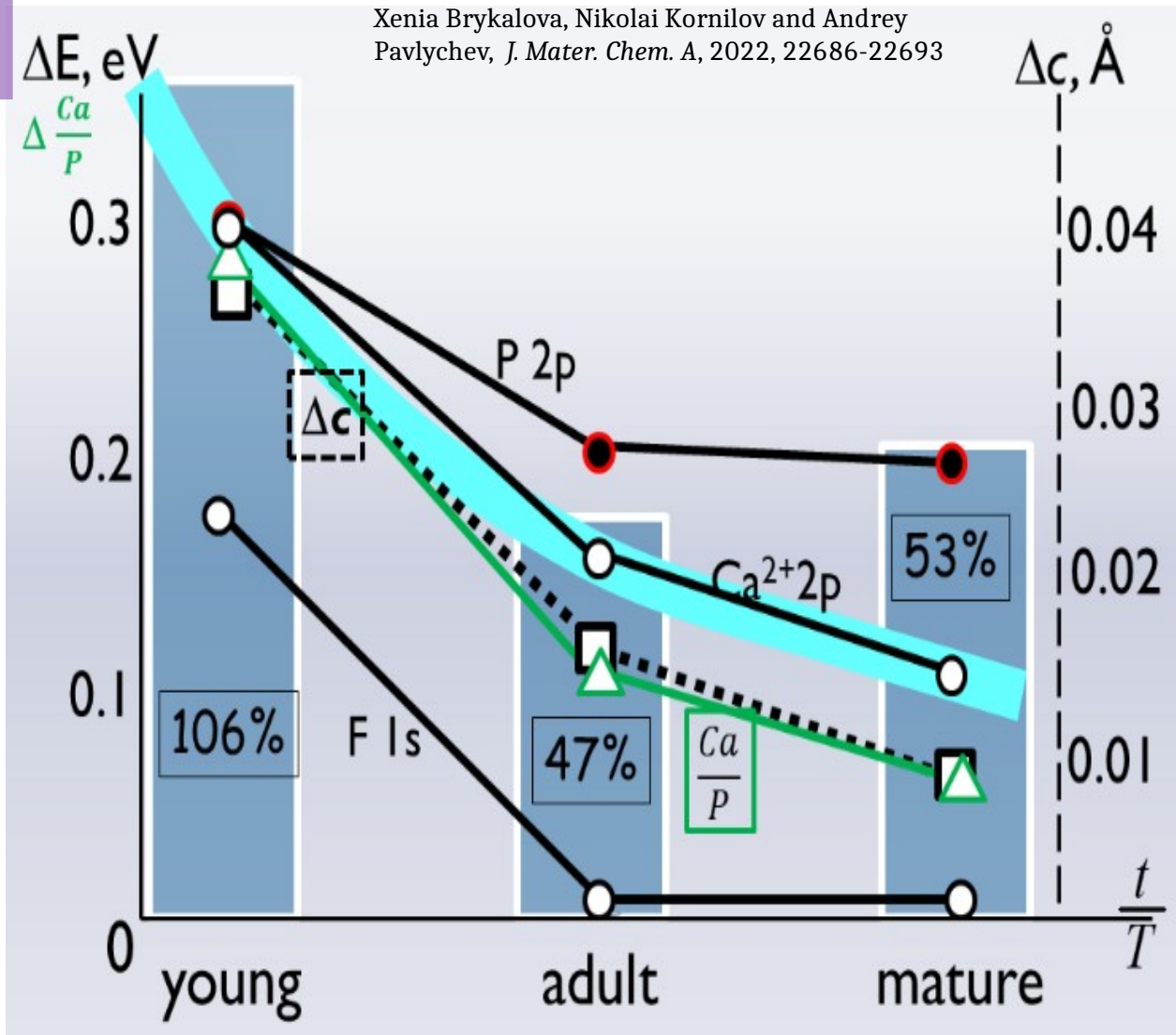


The experimental  $\text{Ca } 2p_{3/2,1/2}^{-1}$  PE lines in HAP (1) and subchondral bone in intact (2) and sclerotic (3) areas as well as near the sclerotic area (4).

The best fitting results of the experimental curves are shown with solid lines. Panels 3 and 4: A, X and Y-components are displayed with blue, orange and grey, respectively.

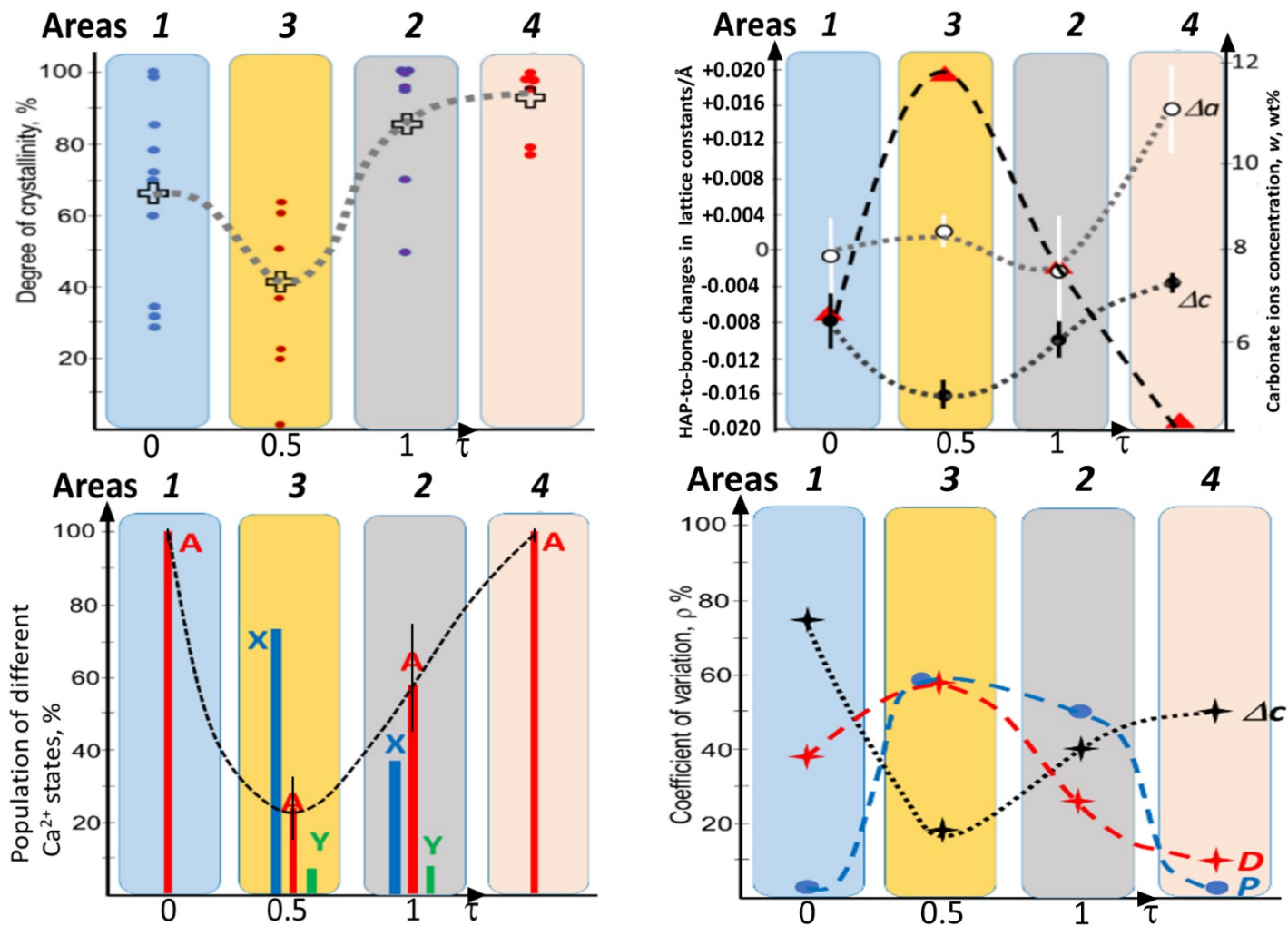


Site-dependent changes of the degrees of crystallinity: proximal side: areas I, @ and S, distal side: T. The *D* values corresponding to individual patients are shown with dots; crosses mark the average degree for each area. The dotted curve demonstrates the site-dependence of the average crystallinity value in mineralized bone in OA knee compartment.



The values of core-electron BEs, lattice constant  $c$ , crystallinity, crystallite sizes demonstrate the systematic transformation with age. Their analysis has revealed an important role of internal electrostatic fields in mineral matrix, generated by the nanoscale heterogeneity of charge distribution. The charges are found to be maximum in young bone and decrease with age. This observation gives us reasons to view native bone as an energy storage material, the counter  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{OH}^-$  flows in which cause the dissipation of electrostatic energy and lead to an equilibrium charge distribution in it.

HAP-to- bone Changes:  $\text{Ca}2p, \text{P}2p, \text{O}/\text{F}1s$  Binding Energies in apatite crystallites (black),  $\text{Ca}$ -to- $\text{P}$  ratio (green),  $c$ -constant stress (dots).



Site-dependent changes of structural and spectroscopic characteristics in the specimens. Colored rectangles correspond respectively to areas 1, 2, 3, and 4. **(a)** Degrees of crystallinity.  $D$  values corresponding to different specimens are shown with dots; crosses mark the average degree for each area; and dotted line demonstrates the site-dependent variations of average crystallinity. **(b)** HAP-to-bone changes in the lattice constants (left scale): black dotted line ( $\Delta c$ ), grey dotted line ( $\Delta a$ ); and white and black vertical bars indicate the standard deviations for  $a$  and  $c$ , respectively. Dash line presents the site-dependence of the carbonate ions concentration  $w$  (right scale); **(c)** mean population of various chemical states of  $\text{Ca}^{2+}$ :  $\text{Ca}^{2+}$ (A) red;  $\text{Ca}^{2+}$ (X) blue; and  $\text{Ca}^{2+}$ (Y) green; and vertical bars indicate the standard deviations for  $P$ . **(d)** Coefficient of variation.  $\rho_D$  (red cross),  $\rho_P$  (blue dot), and  $\rho_{\Delta c}$  (black cross). The horizontal axis also shows changes in the temporal parameter  $\tau$  that describes changes under OA conditions:



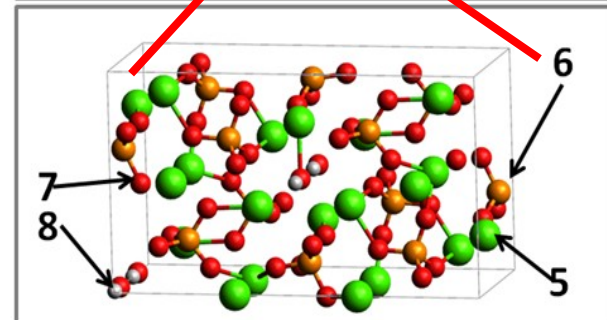
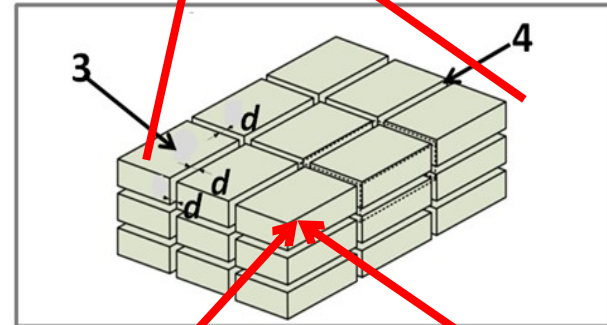
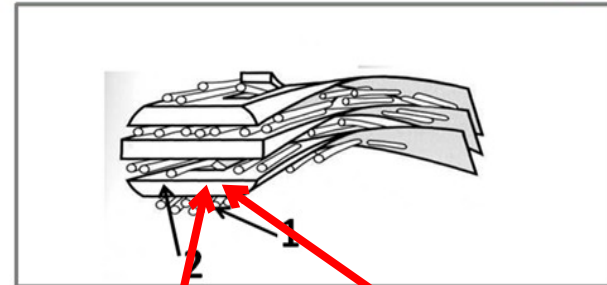
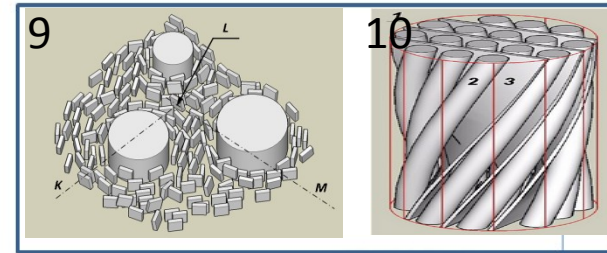
# Пространственно-временные изменения атомно-молекулярной архитектуры костной ткани.....

## Минерализованная кость:

- I. **Основа: кристаллическая ячейка гидроксилапатита кальция (НАР):  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$**
- II **Coplanar assembly of nanocrystals (3) divided by the hydrated nanolayers (4). Mean crystallite = 20-7,5 · 3,5 nm<sup>3</sup>, mean thickness of the layer = 2 nm**
- III **Mineralized platelets (2) distributed among the collagen molecule (1) and swirling around a fibril**
- IV **Inter (9)- and intra (10)-fibrillar distributions of the platelets**

.....

ФНЖ, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, 16 – 19 ОКТ. 2023



IV

III

II

I