



УДК 538.91;577.3;57.088

© 2010

Академік НАН України Б. Є. Патон,
академік НАН України Л. А. Булавін, О. Ю. Актан, Ю. Ф. Забашта,
О. В. Лебедєв, С. Є. Подпрятков, А. Г. Дубко, О. М. Іванова

Структурні перетворення колагену при електрозварюванні м'яких біологічних тканин

Запропоновано молекулярну модель структурних змін, що відбуваються при електрозварюванні м'яких біологічних тканин. В основі даної моделі покладено той факт, що основну роль в такому з'єднанні відіграє взаємодія колагенових структур, які утворюють сітку. Показано, що процес утворення або руйнування цих структур містить дві стадії: стадія переходу клубок — спіраль та стадія утворення чи руйнування вузлів. Експериментально досліджено кінетику цих стадій. Встановлено, що напруження, яке виникає в тканинах під час електрозварювання, є сумою двох складових: напруження, спричиненого зовнішньою механічною силою, та напруження, викликаного дією електричного поля.

На даний час широкого поширення в клінічній практиці набув метод електрозварювання біологічних тканин, створений в Інституті електрозварювання ім. Є. О. Патона НАН України [1, 2]. Подальше вдосконалення і розвиток цього методу пов'язані із встановленням молекулярних механізмів, що лежать в основі процесу електрозварювання біологічних тканин [1].

Особливість процесу електрозварювання полягає в тому, що з'єднання біологічних тканин відбувається без участі з'єднувачів — ниток, металевих скобок та ін. Утримання контакту між тканинами, що з'єднуються, досягається за рахунок утворення деякої мезоморфної фази, яка виникає в обох з'єднуваних тканинах. В даній роботі пропонується механізм виникнення цієї фази.

Фізична модель з'єднання біологічних тканин методом електрозварювання. Як відомо, до головних біологічних тканин організму відносять нервову, м'язову, епітеліальну та сполучну [3]. Важлива роль останньої полягає в тому, що сполучна тканина заповнює простір між основними функціональними елементами органа, з'єднуючи їх в єдине ціле. Ця особливість дозволяє вважати, що мезоморфна фаза має формуватись за рахунок властивостей сполучної тканини.

Відомо також, що основними складовими компонентами сполучної тканини є клітини та міжклітинна речовина, що містить аморфну речовину, еластинові та колагенові волокна [3].

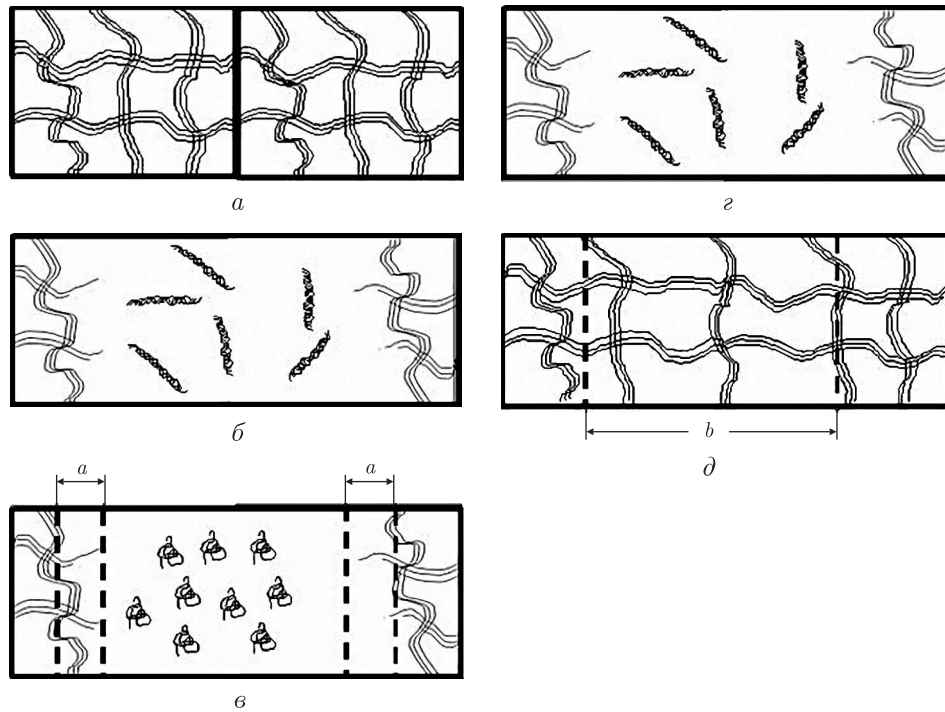


Рис. 1. Фізична модель з'єднання біологічних тканин

Саме останні забезпечують міцність сполучної тканини. За нашим припущенням, проміжна фаза утворюється із сполучної тканини. Тому міцність з'єднання біологічних тканин при електрозварюванні може визначатися колагеновою компонентою сполучної тканини.

Розглянемо гіпотетичну модель, що описує процес з'єднання біологічних тканин, яка ґрунтується на тому факті, що основну роль в цьому з'єднанні відіграє взаємодія колагенових структур.

Згідно з літературними даними, колагенові волокна в сполучній тканині утворюють сітку [3]. Ці волокна являють собою сукупність потрійних спіралей колагену. Колагенові волокна з'єдані один з одним у вузлах сітки. Схематична модель такої сітки показана на рис. 1, а, де зображено ділянки зварювальних біологічних тканин при контакті. Зрозуміло, що незважаючи на контакт, фактично взаємодія між контактуючими тканинами відсутня. Рис. 1, б, в, г, д ілюструють різні стадії утворення мезоморфної фази у з'єднуваних тканинах. Як уже згадувалось, для виникнення мезоморфної фази необхідно змінити вихідну структуру. Це досягається протягом двох стадій.

Перша стадія зводиться до відриву колагенових волокон одне від одного у вузлах з подальшим розпадом волокон на окремі спіралі (рис. 1, б). Такі зміни в структурі можуть бути досягнуті за рахунок спільної дії імпульсів напруги та зовнішньої механічної сили в процесі електрозварювання. Як відомо [4], при цьому в речовині виникають напруження, які визначаються формулою

$$\sigma_{ik} = \sigma_{ik}^{(0)} + \frac{2\varepsilon_0 - a_1}{8\pi} E_i E_k - \frac{\varepsilon_0 + a_2}{8\pi} E^2 \delta_{ik}, \quad (1)$$

де σ_{ik} — тензор напружень; $\sigma_{ik}^{(0)}$ — той же тензор напружень за відсутності електричного поля; E_i — i -та компонента вектора електричної напруженості; δ_{ik} — символ Кронекера.

Інші коефіцієнти визначаються із виразу для діелектричного тензора деформованого середовища ε_{ik} , що має вигляд

$$\varepsilon_{ik} = \varepsilon_0 \delta_{ik} + a_1 u_{ik} + a_2 u_{\ell\ell} \delta_{ik}, \quad (2)$$

де u_{ik} — тензор деформації.

На другій стадії зміни структури відбувається денатурація колагену: спіралі перетворюються в клубки окремих ланцюгів (рис. 1, в). Така зміна відбувається внаслідок нагріву електричним струмом зони зварювання.

Особливістю цієї стадії є виникнення граничної зони a (див рис. 1, в), що розмежує вцілілу сітку та область, де розташовані клубки. В цій зоні ланцюги мають дефектну структуру, пов'язану із утворенням специфічних дефектів — супервакансій, введених у роботах [5–9].

Ці дві стадії є підготовчим етапом до утворення мезоморфної фази, що виникає в зоні зварювання b при охолодженні (рис. 1, д). В даній фазі колагенові ланцюги, що раніше знаходилися в стані клубків, знову об'єднуються в потрібні спіралі, волокна, які в подальшому утворюють сітку. Звичайно, ця сітка дещо відрізняється від вихідної сітки. Частина спіралей має дефектну структуру, пов'язану із наявністю в них супервакансій, але, незважаючи на це, існування сітки є тим фактором, що досить надійно з'єднає обидві зварювані біологічні тканини, забезпечуючи сприятливі умови для подальшого етапу регенерації.

Стадія переходу “клубок—спіраль” в колагенових структурах. Як вже було зазначено, при зшиванні під дією електричного поля утворюється колагенова сітка. Як і у випадку розпаду сітки, коли спочатку сітка замінюється сукупністю потрібних спіралей, що потім переходять в стан клубка, так і в даному випадку, клубки спочатку набувають форми спіралі (рис. 1, з), а вже потім спіралі формують сітку (рис. 1, д). Тож утворення колагенової сітки, як і в попередньому випадку, проходить у дві стадії, з яких перша відповідає переходу клубка в спіраль, а друга — утворенню із спіралей сітки.

За модельну систему нами обрано водний розчин денатурованого колагену. Вивчалось розсіяння світла у такій рідинній системі з концентрацією денатурованого колагену у воді (0,05; 0,1; 0,18; 0,2; 0,3; 0,4) г/л. Розсіяння світла вимірювалося під кутом розсіяння 45° . Типова експериментальна крива для концентрації 0,05 г/л наведена на рис. 2, а, де через ξ позначено відношення розсіяння в довільний момент часу $I(t)$ до інтенсивності розсіяння в початковий момент часу I_0 . За початковий момент часу приймався момент приготування розчину.

В експерименті ми намагалися відтворити реальну ситуацію, яка виникає при зварюванні, коли після нагріву система довільно охолоджувалася. Тому нами було приготовлено рідинну систему вода — денатурований колаген і в ході її охолодження ми досліджували розсіяння світла.

З літературних даних відомо [10], що при температурі 40°C відбувається перехід такої рідинної системи в гель, де ланцюги утворюють сітку. Також відомо, що цьому переходу повинна передувати стадія, на якій клубки переходять у спіральну форму.

Для обробки експериментальних даних використаємо класичну теорію розсіяння світла в розчинах, згідно з якою розсіяння світла I визначається формулою

$$I = HcMP(\theta), \quad (3)$$

де c — концентрація розчиненої речовини; M — її молекулярна маса; H — стала величина для даної системи розчинена речовина — розчинник; $P(\theta)$ — деяка функція кута від кута

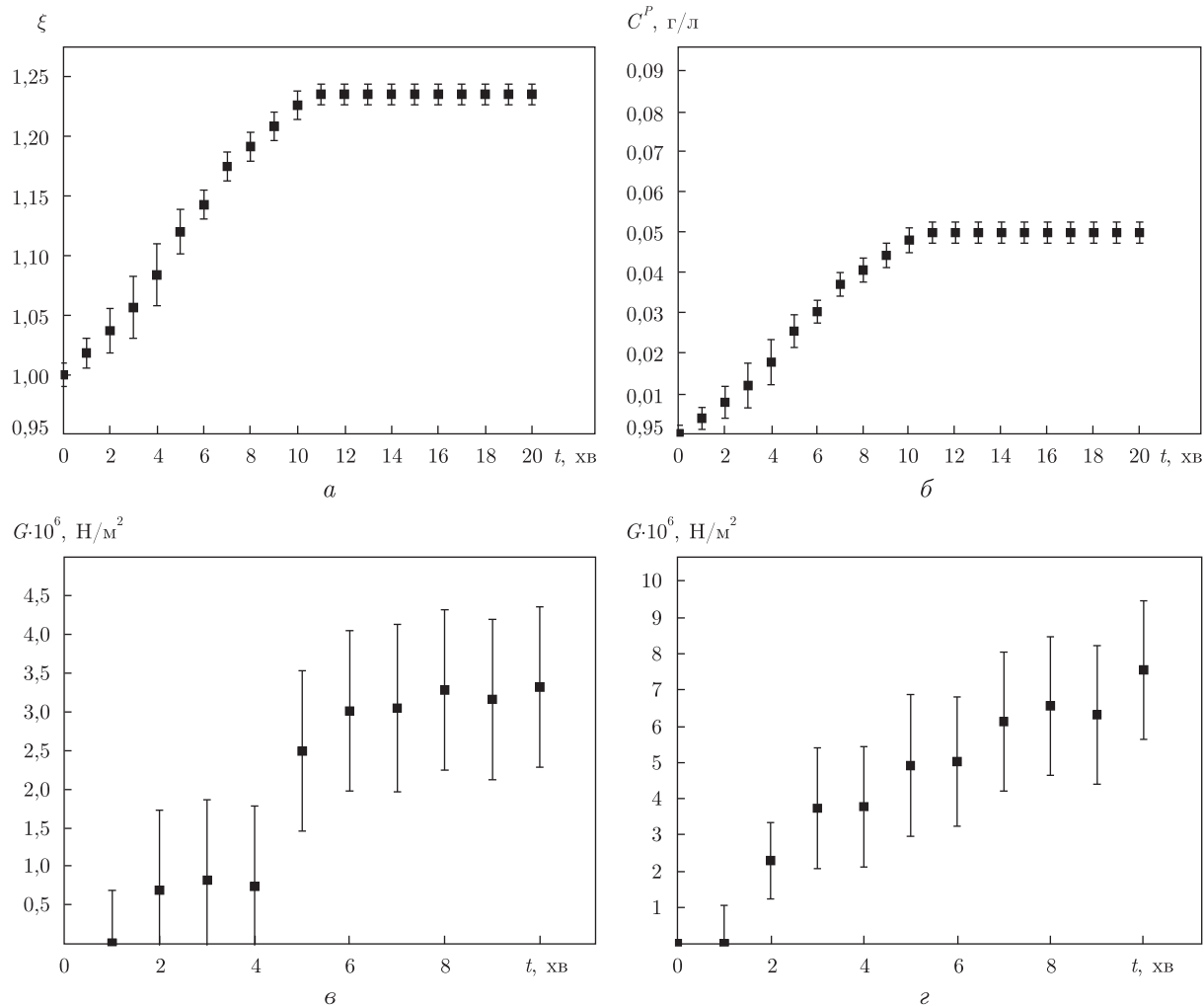


Рис. 2. Часові залежності параметра ξ (а), концентрації спіралей (б), модуля зсуву денатурованого колагену (в – концентрація розчину 6%; г – концентрація розчину 12,5%)

розсіяння, що залежить від властивостей розсіюючих частинок. У загальному вигляді ця функція ϵ

$$P(\theta) = \frac{1}{2} P_v(\theta) (1 + \cos^2 \theta), \quad (4)$$

де $P_v(\theta)$ для клубка має вигляд

$$P^K(\theta) = \frac{2}{x^2} (e^{-x} + x - 1), \quad (5)$$

а для спіралі

$$P^P(\theta) = \frac{1}{y} \text{Si}(2y) - \left(\frac{\sin y}{y} \right)^2. \quad (6)$$

У попередніх формулах

$$x = 16\pi^2 \frac{R^2}{\lambda^2} \sin^2 \frac{\theta}{2}, \quad (7)$$

$$y = \frac{2\pi L}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2}, \quad (8)$$

$$\text{Si}(2y) = \int_0^{2y} \frac{\sin t}{t} dt, \quad (9)$$

де R^2 — середній квадрат радіуса інерції клубка; L — довжина спіралі; λ — довжина світлової хвилі.

У початковий момент часу всі ланцюги мають форму клубка. Тож інтенсивність розсіяння світла

$$I_0 = HcMP^K(\theta). \quad (10)$$

У наступні моменти часу частина клубків переходить в спіралі. Позначаючи через c^K і c^P концентрації клубків і спіралей, отримуємо для інтенсивності розсіяння вираз

$$I(t) = Hc^K(t)MP^K(\theta) + Hc^P(t)MP^P(\theta). \quad (11)$$

Розділивши (11) на (10), отримуємо

$$\xi = 1 + \frac{c^P(t)}{c} \left(\frac{P^P(\theta)}{P^K(\theta)} - 1 \right). \quad (12)$$

Довжина світлової хвилі в нашому експерименті становила 417 Нм, довжина спіралі денатурованого колагену ~ 300 Нм. Значення функції $P^P(\theta)$ для цих чисел дорівнює 0,74.

При $t \rightarrow \infty$ концентрація спіралей $c^P(t) \rightarrow c$. При цьому, згідно з формулою (12),

$$\xi \rightarrow \frac{P^P(\theta)}{P^K(\theta)} = a. \quad (13)$$

Умова (13) дозволяє за експериментально визначеним асимптотичним значенням ξ розрахувати значення $P^K(\theta)$.

Для концентрації спіралей отримуємо

$$c^P = c \left(\frac{\xi - 1}{a - 1} \right). \quad (14)$$

На рис. 2, б наведена одна з отриманих експериментальних залежностей $c^P(t)$ для концентрації 0,05 г/л.

Одержані криві дозволяють оцінити час першої стадії — переходу клубок — спіраль. Згідно з наведеним рисунком, цей час становить приблизно 10 хв. Із збільшенням концентрації час зменшується.

Стадія утворення вузлів. У фізиці полімерів (а колаген і є природним полімером) сіткою називають сукупність полімерних ланцюгів, з'єднаних так званими вузлами. Власне, проблема виникнення сітки зводиться до питання про утворення вузлів. Саме вузли, в першу чергу, визначають міцність сітки. Тому структура вузлів, природа зв'язків, що формують вузли, відіграють першорядну роль при вивченні властивостей сітки.

З якою швидкістю відбувається формування вузлів або, що те ж саме, утворення сітки? У пошуках відповіді на це запитання було проведено дослідження вже згадуваної модельної

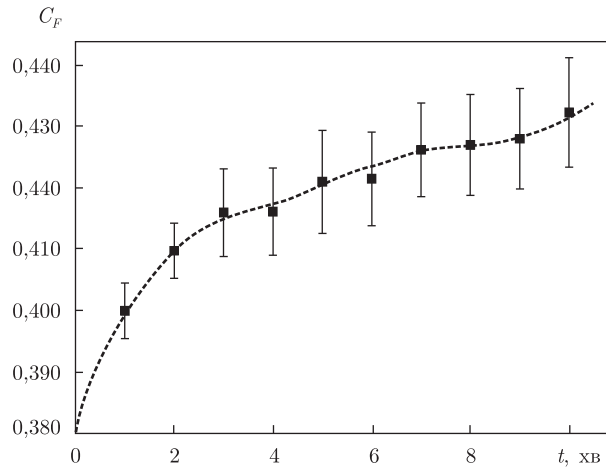


Рис. 3. Зростання кількості гелю з часом (концентрація розчину 12,5%)

системи — рідинної системи вода — денатурований колаген. За методом [11] було отримано залежність модуля зсуву системи від часу (рис. 2, в, г). Вимірювання проводилися при температурі 23 °С.

За цієї температури в рідинній системі мусить утворюватись гель — сітка, в якій проміжки між ланцюгами заповнено рідиною. В модельній системі це — вода, в сполучній біотканині це — аморфна речовина.

Зсувний модуль гелю значно перевищує зсувний модуль розчину, що дозволяє вважати останній рівним нулю. Тому фактично значення вимірюваного модуля зсуву системи визначається виключно кількістю гелю в системі. Завдяки цій обставині ми маємо можливість прослідкувати, як із часом наростає кількість гелю в системі. Розроблено методи [12], які за значенням модуля зсуву дозволяють розрахувати кількість гелю. Користуючись одним із них, ми визначали відносну кількість гелю C_F , що утворюється в системі в кожен момент часу. Типовий графік наведено на рис. 3. Власне, такі графіки і описують кінетику утворення колагенової сітки.

З фізики полімерів відомо, що структурним елементом сітки є фібрила, яка являє собою пучок полімерних ланцюгів. Фібрили між собою з'єднуються вузлами. Ланцюги у фібрилі мають одну й ту ж конфігурацію.

Позначимо через d — діаметр фібрили, а через ℓ — середню відстань між вузлами. Тоді об'єм ділянки фібрили, розташованої між вузлами, наближено дорівнюватиме $d^2\ell$, і для концентрації полімера c в сітці отримуємо формулу

$$c \sim \left(\frac{d}{\ell}\right)^2. \quad (15)$$

Визначимо механізм деформації сітки, що призводить до значення модуля зсуву, отриманого в експерименті. Фібрили можуть мати зігнуту форму, так, як це показано на рис. 4, де лінією зображено вісь фібрили, відстань AB — це відстань між вузлами ℓ . Нехай внаслідок деформації відстань між вузлами стає рівною $A'B'$. При цьому вісь фібрили змінює свою форму (змінена форма фібрили показана штриховою лінією на рис. 4, б).

Як видно з рисунку, опір розтягові виникає внаслідок згину фібрили. Оцінимо модуль пружності сітки E у випадку, якщо деформація сітки викликана згином фібрили.

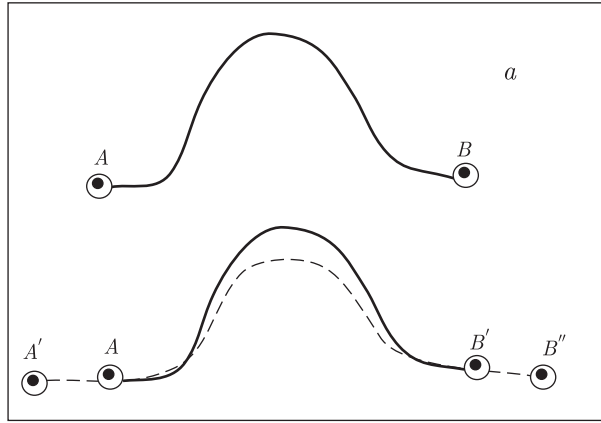


Рис. 4. Схема деформації сітки внаслідок згину фібрил

Позначимо M згинаючий момент, що діє на фібрилу, φ — кут, утворений віссю фібрили з лінією AB , ds — елемент довжини фібрили. Для M маємо

$$M = C_f \frac{d\varphi}{ds}, \quad (16)$$

де C_f — вигинна жорсткість фібрили.

Позначимо E_f поздовжній модуль Юнга фібрили, тоді із міркувань розмірності для жорсткості C_f отримуємо

$$C_f \sim E_f d^4. \quad (17)$$

Відповідно для модуля Юнга сітки в напрямку розтягу AB (див. рис. 4, б) маємо

$$E \sim E_F \left(\frac{d}{\ell}\right)^4. \quad (18)$$

Порівнюючи формули (15)–(18), отримуємо співвідношення

$$E \sim c^2. \quad (19)$$

Оскільки модуль Юнга та модуль зсуву пропорційні, то для останнього маємо аналогічну формулу

$$G \sim c^2. \quad (20)$$

Порівняємо отримані експериментальні залежності для різних концентрацій денатурованого колагену у воді (рис. 2, в, г). Як бачимо, в кожний момент часу відношення модулів зсуву рідинної системи приблизно дорівнює 2, тобто має місце формула

$$G = G_0 c, \quad (21)$$

де G_0 — коефіцієнт пропорційності. Отже, формула (20) не відповідає експериментальним даним, і тому деформація сітки не пов'язана із згином фібрил.

Відповідно із формули (21) для модуля Юнга сітки E маємо вираз

$$E = E_0 c. \quad (22)$$

Таку формулу ми отримаємо, якщо будемо розглядати не згин фібрил, а розтяг в'язей, що діють між силовими центрами одного й того ж ланцюга або між силовими центрами різних ланцюгів. При цьому величина E_0 буде відігравати роль модуля пружності зв'язків, за рахунок розтягу яких і деформується сітка.

Вважаючи полімерний матеріал нестисливим, отримуємо відому формулу $E_0 = 3G_0$. З наших експериментальних даних маємо $G_0 = 70$ МПа, тобто $E_0 \approx 200$ МПа.

Це значення відповідає модулю пружності вандерваальсових зв'язків і ніяк не може бути пов'язано із деформацією хімічних зв'язків, для яких модуль пружності на два порядки вищий. Отже, ми приходимо до важливого висновку: деформація сітки пов'язана виключно із деформацією вандерваальсових зв'язків. Це дозволяє нам зробити висновок і щодо структури вузлів сітки. У цих вузлах фібрили не зв'язані один з одним хімічними зв'язками. Їх з'єднують слабкі вандерваальсові зв'язки. Якщо ми використовуємо термінологію, вжиту де Женом [12], то можемо сказати, що сітка колагену утворена фізичними вузлами, а утворений гель є фізичним.

На закінчення відзначимо: у даній роботі запропоновано молекулярну модель структурних змін, що відбуваються при електрозварюванні м'яких біологічних тканин, досліджена кінетика стадій, що відповідають структурним змінам. Із цих досліджень можна отримати інформацію про часові характеристики електричного поля — тривалість імпульсів, їх частоту, часову залежність сили струму на цих стадіях.

Звичайно, для проведення згаданих розрахунків слід вдосконалювати запропоновану модель, розвиваючи на її основі молекулярну теорію електрозварювання м'яких біологічних тканин.

Оскільки наведені в нашій роботі дані описують не весь процес електрозварювання живої тканини, а тільки окрему його частину, варто підкреслити, що вони є тільки початком досліджень в галузі фізики електрозварювання м'яких біологічних тканин.

1. Патон Б. Е. Электрическая сварка мягких тканей в хирургии // Автомат. сварка. – 2004. – № 9. – С. 7–11.
2. Гринцов А. Г., Совпель О. В., Василенко Л. И. и др. Использование электробиологической сварки мягких тканей в хирургии // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2005. – № 4/5. – С. 77–79.
3. Марри Р. и др. Биохимия человека. – Москва: Мир, 1993. – Т. 2. – 415 с.
4. Ландау Л. Д., Лившиц Е. М. Электродинамика сплошных сред. – Москва: Наука, 1982. – 620 с.
5. Bulavin L. A., Aktan O. Yu. Molecular mechanism of the regeneration of the connective tissue // Adv. in Molecular Medicine. – 2005. – No 3(1). – P. 103–106.
6. Булавин Л. А., Актан О. Ю., Забашта Ю. Ф. Вакансии в складчатых полимерных кристаллах // Высокомолекул. соединения. – 2002. – № 9/44. – С. 1536–1542.
7. Булавин Л. А., Актан О. Ю., Забашта Ю. Ф. Статистическая теория плавления складчатых кристаллов, содержащих вакансии // Там же. – 2003. – № 10/45. – С. 1684–1688.
8. Булавин Л. А., Актан О. Ю., Забашта Ю. Ф. Возникновение мезоморфной фазы складчатых кристаллов, содержащих вакансии // Там же. – 2005. – № 4/47. – С. 690–694.
9. Bulavin L. A., Aktan O. Yu., Zhabashta Yu. F. Anisotropic and isotropic phases of polymer melts // J. of Molecular Liquids. – 2005. – **120**. – P. 139–141.
10. Bigi A., Panzavolta S., Rubini K. Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films // Biomaterials. – 2004. – **25**. – P. 5675–5680.
11. Булавин Л. А., Актан О. Ю., Забашта Ю. Ф., Ніколаєнко Т. Ю. Спосіб визначення реологічних характеристик консистентних рідин / Пат. 78094 Україна, МПК⁷ G01N^{11/16}. – Опубл. 15.02.2007. – Бюл. № 2.

12. Шермегор Т. Д. Теория упругости микронеоднородных сред. – Москва: Наука, 1977. – 320 с.
13. Де Жен П. Идеи скейлинга в физике полимеров. – Москва: Мир, 1982. – 368 с.

*Інститут електрозварювання
ім. Є. О. Патона НАН України, Київ
Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка*

Надійшло до редакції 23.06.2009

Academician of the NAS of Ukraine **B. E. Paton**,
Academician of the NAS of Ukraine **L. A. Bulavin, O. Yu. Aktan, Yu. F. Zabashta,**
O. V. Lebedev, S. E. Podpryatov, A. G. Dubko, O. M. Ivanova

Structural transformations of collagen at the electrowelding of soft biological tissues

A molecular model of the structural changes which occur during the electrowelding of soft biological tissues is proposed. It is assumed that the basic role is played by the interaction of the collagen structures which form a grid. It is shown that the process of formation of or destroying these structures contains two stages: the “coil – helix” transition and the stage of formation or destruction of units. The kinetics of these stages is experimentally investigated. It is established that the stress, which appears in tissues during the electrowelding, is a sum of two components: the stress caused by an external mechanical force and the stress caused by the action of an electric field.